Aus dem Institut für Physiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Peter Koepchen

Oszillationen der Glykolyse, des Citratzyklus, des Fettstoffwechsels und der energiereichen Organophosphate in der glatten Gefäßmuskulatur (Arteria Carotis)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Torsten Ewert
aus Allenstein/Ostpreußen

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0037

Aus dem Institut für Physiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Peter Koepchen

Oszillationen der Glykolyse, des Citratzyklus, des Fettstoffwechsels und der energiereichen Organophosphate in der glatten Gefäßmuskulatur (Arteria Carotis)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Torsten Ewert
aus Allenstein/Ostpreußen

1976

Referent: Professor Dr. Albrecht Schott
Korreferent: Professor Dr. Michael Wiederholt

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 22.6.1976

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

SYMBOLE

A. EINLEITUNG

1. Rhythmische Aktivitäten auf zellulärer Ebene 9
2. Allgemeine Fragestellung der Untersuchung 11
3. Die enzymatischen Systeme der glatten Muskulatur 11
4. Die biologische Rückkopplung auf molekularer Ebene 14
5. Die Fremdbeeinflussung der glatten Muskulatur durch Jodacetat 16
6. Konkrete Aufgabenstellung der Untersuchung 16

B. METHODIK

1. Tiere 18
2. Das Perfusionssystem 18
3. Das Stoppen der enzymatischen Tätigkeiten 21
4. Die Extraktbereitung 21
5. Der enzymatische Test 22
6. Berechnungen und Abbildungen 22

C. ERGEBNISSE

1. Das Verhalten ausgewählter Stoffwechselgrößen in ruhender Gefäßmuskulatur ohne und mit Jodacetat 24
1.1. Die ruhende Gefäßmuskulatur (Kontrollserien) 24
1.1.1. Das Verhalten von Stoffwechselgrößen des Adenylat- und Creatinkinasesystems 25
1.1.2. Das Verhalten von Stoffwechselgrößen der Glykolyse 28
1.1.3. Das Verhalten der Stoffwechselgrößen Malat und β-Hydroxybutyrat 29
1.2. Die ruhende Gefäßmuskulatur nach Jodacetatapplikation (Applikationsserien) 30
1.2.1. Das Verhalten von Stoffwechselgrößen des Adenylat- und Creatinkinasesystems 33
1.2.2. Das Verhalten von Stoffwechselgrößen der Glykolyse 37

1.2.3. Das Verhalten der Stoffwechselgrößen Malat und ß-Hydroxybutyrat 38

D. DISKUSSION

1. Der Aktivitätszustand von Glykolyse und Citratzyklus, die Bildung von ATP und dessen Verbrauch 40
2. Wechselbeziehungen der enzymatischen Systeme 45
3. Vergleich zwischen Kontroll- und Applikationsserien 47

E. ZUSAMMENFASSUNG 49

F. TABELLEN 51

G. ABBILDUNGEN

1. Kontrollserien - Mittelwerte
   Abb. 2.0 bis 8.0 91
2. Applikationsserien - Mittelwerte
   Abb. 9.0 bis 15.0 97
3. Applikationsserien - iterativ optimiert
   Abb. 9.a bis 15.a 103
4. Kontroll- und Applikationsserien - Einzelwerte
   Abb. 2.1 bis 15.3 115

H. LITERATUR 139

LEBENSLAUF

SYMBOLE

ATP	Adenosin-5'-triphosphat
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
Acetyl-CoA	Acetyl Coenzym A
α-GP	α-Glycerophosphat
ß-HOB	ß-Hydroxybutyrat
CK	Creatinkinase
Cr	Creatin
CrP	Creatinphosphat
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
F-6-P	Fructose-6-phosphat
G-6-P	Glucose-6-phosphat
GAP	Glycerinaldehydphosphat
HK	Hexokinase
IAA	Jodacetat
L	Lactat
LDH	Lactatdehydrogenase
M	Myosin
MK	Myokinase
$(Na^+ + K^+)$-ATPase	Na^+- und K^+-aktivierbare Adenosin-triphosphatase
NAD	Nicotinamid-adenin-dinukleotid
NADH	Nicotinamid-adenin-dinukleotid (reduziert)
P	Pyruvat
P_i	anorganisches Phosphat
PCA	Perchlorsäure
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFK	Phosphofructokinase
PGK	Phosphoglyceratkinase
PK	Pyruvatkinase
SH-Gruppe	Sulfhydryl-Gruppe
TRA	Triäthanolamin

A. EINLEITUNG

1. Rhythmische Aktivitäten auf zellulärer Ebene

In biologischen Systemen ist die Rhythmusbildung (Herzzyklus, Atmung, Gefäßrhythmen) ein bekanntes Phänomen.

Die Frage, ob die Rhythmusentstehung nur im Zellverband oder auch in der Einzelzelle erfolgen kann, führte zur Isolierung rhythmisch aktiver Substrate.

Als ein geeignetes Untersuchungsobjekt bietet sich dabei die glatte Muskulatur, z.B. isolierter Arterien an, da von ihnen bekannt ist, daß sie zu langsamer, spontaner Kontraktion und Erschlaffung fähig sind (Koepchen 1967, Seller et al. 1967). Diese langsamen Spontanrhythmen des glatten Gefäßmuskels eignen sich für biophysikalische und biochemische Untersuchungen.

Der Nachweis, daß metabolische Parameter auf subzellulärer Ebene oszillatorischen Veränderungen unterworfen sind, gelang zunächst an Hefezellen durch kontinuierliche Registrierung der NADH-Konzentration. Diese Veränderungen konnten dem glykolytischen System zugeschrieben werden. Allerdings fanden die Oszillationen in intakten Zellen nur in Form von gedämpften Schwingungen statt (Chance et al. 1964a, Hommes a. Schuurmans-Stekhoven 1964). Der Nachweis rhythmischer Daueraktivitäten kann jedoch nur durch die Beobachtung kontinuierlicher Oszillationen erbracht werden. Derartige Oszillationen wurden im zellfreien Extrakt glykolytischer Enzyme von Hefe- und Herzzellen durch Aufzeichnung des NADH-Gehaltes bewiesen (Chance et al. 1964 b,c, Pye a. Chance 1966, Frenkel 1966).

Durch schrittweise Analyse der glykolytischen Metabolite gelang es, das Verhalten der glykolytischen Enzyme zu beschreiben (Ghosh a. Chance 1964).

Die Entdeckung, daß die isolierte Glykolyse die Fähigkeit zur Autooszillation besitzt, führte zur Suche nach ähnlichen Systemen. Ein weitaus komplexeres System mit der Fähigkeit zu Schwingungen wurde an membrangebundenen Enzymen der Mitochondrien entdeckt (Chance a. Yoshioka 1966, Graven et al.

1966). Dabei zeigten sich mehrere rhythmisch ineinandergreifende Prozesse, wobei die Schwellung der Mitochondrien, die aktive Akkumulation von K^+-Ionen, die Ejektion von H^+-Ionen, die Hydrolyse von ATP, die Abnahme der Aktivität der Atmungsfermente und die Zunahme des Redoxpotentials von NADH/NAD phasisch miteinander verbunden sind (Chance a. Yoshioka 1966, Graven et al. 1966, Harris et al. 1967, Packer et al. 1966, Pressman 1965).

Allerdings bedürfen diese Oszillationen eines auslösenden Faktors, z.B. der Stimulation durch Antibiotika, die die oxidative Phosphorylierung entkoppeln und die ATP-Hydrolyse stimulieren (Graven et al. 1966, Moore a. Pressman, 1964). Eine gedämpfte oszillatorische Antwort der Mitochondrien gelingt ebenfalls bei Applikation von EDTA (Packer et al. 1966). Das erinnert an die "lokale Antwort" der äußeren Zellmembran am Ca^{++}-verarmten Axon (Arvanitaki 1939).

Inzwischen ist es erwiesen, daß die Muskelzellen der kleinen Widerstandsgefäße zur Bildung langsamer, kontinuierlicher Potentialwellen in der Lage sind (Steedman 1966). Diese Eigenschaft der Membran kann auf korrespondierende ionale Austauschvorgänge zurückzuführen sein. Derartige Prozesse wurden in Form langsamer, kontinuierlicher Oszillationen von transmembranalen Na^+- und K^+-Fluxen am glatten Muskel der Arteria carotis beschrieben (Siegel et al. 1972).

Es stellt sich nun die Frage, ob diese Membranvorgänge eine selbstoszillatorische Eigenschaft der Membran sind oder aber durch oszillatorische Mechanismen innerhalb der Zelle bedingt werden. Als oszillationsfähige intrazelluläre Systeme kommen, wie oben geschildert, die Glykolyse und Enzymsysteme der Mitochondrien in Frage.

Ein gemeinsames Produkt beider Systeme ist das ATP, ein spezifischer Energieträger für alle energieverbrauchenden Prozesse der Zelle (Lehninger 1970). Wenn Glykolyse und/oder Enzymsysteme der Mitochondrien rhythmisch tätig sind, dann besteht theoretisch die Möglichkeit eines rhythmischen Angebots von ATP an die Zellmembran.

Hinweise dafür, daß steigende ATP-Konzentrationen mit erhöhten transmembranalen Transporten einhergehen können, liefern folgende Beobachtungen: a) DNP bewirkt in der 1. Phase der Applikation sowohl einen Anstieg von ATP und Creatinphosphat als auch einen erhöhten elektrischen Auswärtstransport (Schott et al. 1969). b) IAA-Applikation ergibt ebenfalls in der 1. Phase einen korrespondierenden Anstieg von ATP und Na-Auswärtstransport (Siegel et al. 1971, Siegel et al. 1969).

2. Allgemeine Fragestellung der Untersuchung

Aus der obigen Diskussion ergeben sich folgende Fragen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden sollen:

1. Können die Oszillationen bestimmter Membranstrukturen durch das ATP eines der beiden erwähnten ATP-produzierenden Systeme hervorgerufen werden?
2. Kommt dabei einem der Systeme eine Schrittmacherfunktion zu?
3. Wie erfolgt die gegenseitige Kontrolle bzw. Rückkopplung?

Um eine Antwort hierauf zu finden, soll zunächst der heutige Erkenntnisstand bestimmter, für die Funktion des glatten Muskels wesentlicher, enzymatischer Systeme, die Rückkopplung zwischen den Enzymen der Glykolyse und die Wirkung von Jodacetat beschrieben werden.

3. Die enzymatischen Systeme der glatten Muskulatur

Der glatte Muskel kann nach enzymatischen Funktionseinheiten aufgeschlüsselt werden. Dabei erscheint es für die vorliegende Arbeit sinnvoll, diese Funktionseinheiten nach energetischen Gesichtspunkten zu gliedern:

a) in einen ATP-liefernden Anteil,
b) in einen ATP-verbrauchenden Anteil.

Zu a). Die ATP-liefernden Systeme bestehen im wesentlichen aus zwei Gruppen. Die eine Gruppe vermag Stoffwechselenergie unter Bildung von ATP aus ADP und P_i abzufangen (Glykolyse und Atmungskette), während die andere Re-

aktionen umfaßt, die ATP aus bereits gebildetem energiereichem Phosphat entweder durch Disproportionierung (Myokinasereaktion) oder durch Übertragung (Creatinkinasereaktion) entstehen lassen.

Die Glykolyse wird als Beispiel eines molekularen Rückkopplungssystems in Abschnitt A.4. beschrieben. Sie liefert ATP durch Substratkettenphosphorylierung.

Die Atmungskette läuft in den Mitochondrien ab. Damit diese arbeiten können, benötigen sie oxidierbares Substrat, ADP, AMP und P_i (Chance a. Weber 1963, Ozawa 1966). Den Auslöser für die Tätigkeit der Mitochondrien stellt das ADP dar (Chance et al. 1962). Als Substrat steht den Mitochondrien u.a. auch ß-Hydroxybutyrat (Chance 1955a) aus dem Fettstoffwechsel zur Verfügung.

Die Myokinasereaktion stellt ein Gleichgewicht zwischen den Adenin-Nukleotiden ATP, ADP und AMP her (Markland a. Wadkins 1966):

$$ATP + AMP \rightleftharpoons 2ADP$$

$$\frac{[ATP] \times [AMP]}{[ADP^2]} = 0{,}8$$

Bei diesem Gleichgewicht besteht, je nachdem, welches Adenin-Nukleotid mengenmäßig überwiegt, eine bestimmte Energiebeladung. Diese läßt sich nach der Formel

$$\frac{[ATP] + 0{,}5\ [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

berechnen.

Die Energiebeladung hat ihr Maximum beim Quotienten 1 (nur ATP vorhanden) und ihr Minimum beim Quotienten 0 (nur AMP vorhanden). Der Zähler dieses Quotienten ergibt die Hälfte des Anhydrid-gebundenen Phosphats, der Nenner die Summe der Adenin-Nukleotide. Somit stellt die Energiebeladung das Phosphorylierungspotential der Zelle dar (Atkinson 1968).

Die Creatinkinasereaktion stellt im Muskel das Gleichgewicht zwischen der primären Energiequelle ATP und dem Energiespeicher Creatinphosphat ein (Lundsgaard 1930a,b, Lohmann 1934).

$$CrP + ADP \rightleftharpoons ATP + Cr$$

Das Gleichgewicht liegt dabei auf der Seite der ATP-Bildung (Carlson a. Siger 1959).

Zu b). Zwei wesentliche Arbeitsleistungen des glatten Muskels sind einmal die Erzeugung eines Tonus (Rüegg 1971) und zum anderen der aktive Transport von Ionen (siehe unten). Außerdem wird in der glatten Muskelzelle ATP für verschiedene Biosynthesewege, insbesondere zur Proteinbiosynthese und zur Glykogensynthese, verbraucht. Für das Zustandekommen des Tonus wird ATP durch die Actin-Myosin-ATPase in einer mehrstufigen Folge enzymatisch hydrolysiert. Dies geschieht nach folgender Gleichung:

$$\text{Myosin} + ATP \rightleftharpoons M \bullet ATP \rightleftharpoons M \bullet ADP \bullet P_i \rightleftharpoons M + ADP + P_i$$

ATP und ADP sind in der Lage, die Dissoziation des Myosin-ADP-P_i-Komplexes zu beschleunigen. Die Dissoziation stellt den umsatzlimitierenden Faktor dar (Taylor et al. 1970). Außerdem fördert ATP die Dissoziation des Actin-Myosin-Komplexes (Lymn a. Taylor 1971). Am Beispiel des ATP und ADP zeigt sich, wie später noch ausführlich diskutiert wird, daß diese Adenin-Nukleotide eine maßgebliche Rolle bei der Kontrolle von Enzymaktivitäten tierischer Zellen spielen.

Der aktive Ionentransport von Na^+ und K^+ an der äußeren Zellmembran läuft nach folgendem Schema ab:

Die (Na^++K^+)-ATPase wird durch ATP in Gegenwart von Mg^{++} phosphoryliert, dabei transportiert dieses Enzym Na^+- und K^+-Ionen über die Zellmembran (Skou 1960, Wolowyk et al. 1971). Na^+-Ionen und ATP sind spezifisch für den ersten Schritt dieser Reaktion, bei der die endständige Phosphatgruppe von ATP auf das Enzym übertragen wird. Dabei entsteht ein Phosphorylierungsprodukt bestimmter allosterischer Konfiguration, das Na^+-Ionen aus der Zel-

le heraustransportiert. Sind die Na^+-Ionen an der Außenseite der Membran angelangt, dann geht das Enzym in einen anderen allosterischen, phosphorylierten Zustand über. Es verliert seine Affinität für Na^+, gewinnt aber eine solche für K^+. Diese Form transportiert K^+-Ionen in die Zelle. Hier katalysiert das K^+-Ion die Dephosphorylierung des Enzyms (Fahn et al. 1966a, b, Fahn et al. 1968, Siegel a. Albers 1967, Dahms a. Boyer 1973). Dieser Prozeß wird durch eine steigende Konzentration von ATP aktiviert (Post et al. 1965, Limas a. Cohn 1974). Eine steigende Konzentration von K^+-Ionen kann diesen Effekt von ATP wieder rückgängig machen (Post et al. 1972). Diese allosterischen Veränderungen des Enzyms werden durch K^+ und ATP bewirkt (Robinson 1967). Auch hier zeigt sich wieder, daß ein Adenin-Nukleotid maßgeblich am Funktionszustand eines Enzyms beteiligt ist.

4. Die biologische Rückkopplung auf molekularer Ebene

Die biologische Rückkopplung auf molekularer Ebene garantiert, daß sich Enzymreaktionen innerhalb eines bestimmten Sollwerts bewegen. Kommt es zu einer Sollwertabweichung, dann antwortet die Zelle mit einer Hemmung oder Stimulierung, bis der gewünschte Sollwert wiederhergestellt ist. Hierdurch ist die biologische Homöostase oder Zellkonstanz garantiert.

Derartige Rückkopplungsmechanismen in Biosynthesewegen (Yates a. Pardee 1956, Bücher et al. 1958, Umbarger a. Brown 1958, Atkinson 1965) führten zunächst zu der Anschauung eines stationären Flusses von Metaboliten durch Enzymsysteme. Erst die genaue und exakte Beobachtung und Erforschung der Glykolyse zeigten, daß eine Rückkopplung periodisch erfolgen kann (Chance et al. 1964b,c).

Das Beispiel der Glykolyse als selbsterregter Oszillator soll hier, da es später für das Verständnis des Verhaltens der gemessenen Metabolite wichtig ist, kurz beschrieben werden: Messungen der NADH-Nukleotide in intakten Zellen und im zellfreien System ergaben periodische Veränderungen des Redoxzustandes dieser Nukleotide (Duysens a. Amesz 1957, Hommes a. Schuurmans-Stekhoven 1964, Pye a. Chance 1966, Frenkel 1966, Hess a. Boiteux 1973, Boiteux a. Hess 1973, Hess a. Boiteux 1968, Chance et al. 1965a). Gleich-

zeitig durchgeführte Bestimmungen der Intermediate der Glykolyse zeigten, daß alle Substrate zwar mit gleicher Frequenz, aber nicht in Phase zueinander schwingen. Eine Phasenverschiebung um 180^{o} ergibt sich zwischen Substraten und Produkten der PFK. Nimmt deren Aktivität zu, dann steigt der glykolytische Fluß und die Substrate G-6-P und F-6-P nehmen ab, während die Produkte bis zur GAPDH steigen und umgekehrt. Dieses Phänomen läßt den Reaktionsschritt eines Enzyms zum Kreuzungspunkt werden (Ghosh a. Chance 1964). Das gleiche stellt man an der PK fest. Bei deren Aktivitätssteigerung nimmt das Substrat Phosphoenolpyruvat ab und das Produkt Pyruvat zu und umgekehrt. Die beiden Enzyme PFK und PK unterscheiden sich darin, daß das erstere der sogenannten "oberen" Glykolyse angehört, die sich bis zum GAPDH-Schritt erstreckt, während die PK der "unteren" Glykolyse angehört. Zwischen "oberer" und "unterer" Glykolyse liegt eine Phasenverschiebung von rund 80^{o} (Hess 1972). Damit die Oszillationen kontinuierlich ablaufen, bedarf es zweier Prämissen:

1. Der Substratfluß muß kontinuierlich sein.
2. Es muß ein ATP-verbrauchendes System vorhanden sein (Hess a. Boiteux 1968).

Treffen diese Voraussetzungen zu, dann ist die Glykolyse selbstoszillatorisch (Hess a. Boiteux 1973).

Die Geschwindigkeit des glykolytischen Flusses ist vom Aktivitätszustand der Enzyme abhängig. Dieser kann durch Änderung des Substratflusses und durch den Verbrauch von ATP gesteuert werden. Als das entscheidende Enzym zur Auslösung der Oszillationen wurde die PFK erkannt. Sie beeinflußt wesentlich die Aktivitäten der PK und der PGK und indirekt der GAPDH (Hess a. Boiteux 1968). Die PFK (Chance et al. 1965b), GAPDH (Kirschner et al. 1966) und PK (Hess et al. 1955) bewirken sowohl die Substrat- und Produktaktivierung als auch die Substrat- und Produkthemmung nach allosterischen Kontrollmechanismen. Die PFK und damit die Glykolysekette werden, wie schon bei der Actin-Myosin-ATPase und der $(Na^{+}+K^{+})$-ATPase erwähnt, ebenfalls durch die Adenin-Nukleotide kontrolliert. ADP und AMP aktivieren den abnehmenden glykolytischen Fluß, während ATP den gesteigerten glykolytischen Fluß wieder bremst (Chance et al. 1965a).

5. Die Fremdbeeinflussung der glatten Muskulatur durch Jodacetat

Jodacetat hemmt schon in Konzentrationen von 0,3 mMol/l bei 18°C die Lactatbildung des Muskels innerhalb von 20 Minuten vollständig (Meyerhof u. Boyland 1931). Dabei wird die GAPDH gehemmt (Webb 1966). Die Wirkung von Jodacetat besteht hauptsächlich in seiner alkylierenden Wirkung auf SH-Gruppen (Olcott a. Fraenkel-Conrat 1947). Die Reaktionsgeschwindigkeit mit diesen Sulfhydrylgruppen ist jedoch enzymspezifisch (Gundlach et al. 1959), am größten bei der oben erwähnten GAPDH. Manche Enzyme, wie z.B. die Creatinkinase, können auch durch ihr Substrat oder Produkt geschützt sein (Padieu a. Mommaerts 1960).

Jodacetat in einer Konzentration von 5 mMol/l hemmt beim quergestreiften Muskel jegliche Kontraktion (Carlson u. Siger 1960). Die durch den Angriff auf SH-Gruppen des aktiven Zentrums von Enzymen bewirkte Hemmung durch IAA und andere Sulfhydrylreagenzien führt jedoch häufig über eine Phase der gesteigerten Aktivität (Stracher 1963, Kielley a. Bradley 1956). Dies kann man sich so vorstellen, daß ein Enzym im kontrollierten Zustand normalerweise in einer relativ inaktiven Form vorliegt. Durch Interaktion zwischen SH-Reagens und SH-Gruppe folgt dann eine Steigerung der Enzymaktivität und damit eine Annäherung an das thermodynamische Gleichgewicht. Im Fall der Applikation von Jodacetat kommt es anschließend durch die irreversible Reaktion zur absoluten Hemmung (Olcott a. Fraenkel-Conrat 1947). An der $(Na^+ + K^+)$-ATPase aktivieren die Haloacetate die Dephosphorylierung (Dahms a. Boyer 1973); dadurch kann das Enzym die Zahl seiner Transportzyklen erhöhen.

6. Konkrete Aufgabenstellung der Untersuchung

Die Beobachtung, daß ATP Na^+- und K^+-Ionenströme zu erhöhen vermag, lenkte die Aufmerksamkeit auf intrazelluläre Ereignisse.

Wie geschildert, liefern die Glykolyse und die oxidative Phosphorylierung ATP. Demnach könnte eine Stimulation von hier aus geschehen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Schwerpunkt der Untersuchung auf die Glykolyse gelegt und der Zelle als Substrat Glukose angeboten. Die Tätigkeit der Gly-

kolyse kann periodisch erfolgen, ebenso unter bestimmten Voraussetzungen die der Mitochondrien. Derartige Oszillationen können eine rhythmische Bildung von ATP herbeiführen und könnten somit einen periodischen Einfluß auf die Membran ausüben. Die $(Na^+ + K^+)$-ATPase der Membran ist durch ATP aktivierbar. Deshalb wurden die Konzentrationen von ATP, ADP und AMP gemessen, gleichzeitig die von CrP und Cr, da diese beiden zuletzt genannten Metabolite über die Creatinkinasereaktion mit dem Adenylatsystem verbunden sind.

Aus diesen Meßdaten wurde die Energiebeladung, der ATP/ADP-Quotient, der Myokinasequotient, der Creatinkinasequotient und die Summe sowohl der Adenin-Nukleotide als auch von Creatinphosphat und Creatin errechnet. Die Veränderungen dieser Größen sollen zur Charakterisierung des Aktivitätszustandes der Glykolyse und des Citratzyklus herangezogen werden. Aus dem gleichen Grund wurden daher aus der Glykolyse die Konzentrationen von G-6-P, α-GP, Pyruvat und Lactat gemessen und der L/P-Quotient berechnet. Als spezielles Substrat für die Mitochondrien wurde ß-Hydroxybutyrat aus dem Bereich des Fettstoffwechsels gemessen und als Metabolit des Citratzyklus das Malat.

B. METHODIK

1. Tiere

Die Versuche wurden an der Arteria carotis des Hundes vorgenommen. Dieses Gefäß besitzt im Vergleich zu anderen einen hohen Muskelanteil und nur wenig Adventitia (Siegel et al. 1975, Herlihy a. Murphy 1973). Es wurden insgesamt fünf Versuchsserien mit bis zu maximal sechs Hunden durchgeführt. Die ersten zwei Versuchsserien dienten als Kontrollen, die restlichen drei als Applikationsserien für Jodacetat. Eine zusätzliche (hier als Serie 4 bezeichnete) Applikationsserie, die in die Auswertung einbezogen wurde, stammte aus Vorversuchen derselben Arbeitsgruppe (Siegel et al. 1969).

Die Auswahl der Hunde sollte nach einheitlichen Gesichtspunkten, wie Rasse, Geschlecht, Alter, Pflege und Ernährung stattfinden. Das war in praxi nur bedingt möglich. Die Kontrollen und die Applikationsserien 1 und 4 wurden an Schäferhunden vorgenommen, während für die Applikationsserien 2 und 3 Beaglewürfe zur Verfügung standen, die sich im Alter unterschieden.

Die Tiere wurden durch Bolzenschlag betäubt und die Carotiden herausoperiert. Sofort im Anschluß hieran wurde die Adventitia weitgehend entfernt, wobei die Carotis in das Perfusionsmedium eingetaucht war. Das Belassen der Adventitia im Muskel hätte, da sie durch einen hohen Gehalt an Bindegewebe und Wasser (Cox et al. 1974) gekennzeichnet ist, sowohl die absoluten Konzentrations- als auch die Trockengewichtsangaben verfälscht.

2. Das Perfusionssystem

Die Perfusion der Carotiden erfolgte in einer eigens dafür konstruierten Durchströmungskammer (Abb.1.1),die es gestattete, ein Carotispaar, in 12 Anteile zerschnitten, gleichzeitig in einer Kammer zu durchströmen. Der Carotisabschnitt wurde an einem konischen Anschlußstück mit einem Nylonfaden fixiert, der es außerdem ermöglichte, den Carotisabschnitt schnell und mühelos aus dem Perfusionsbad zu entfernen.

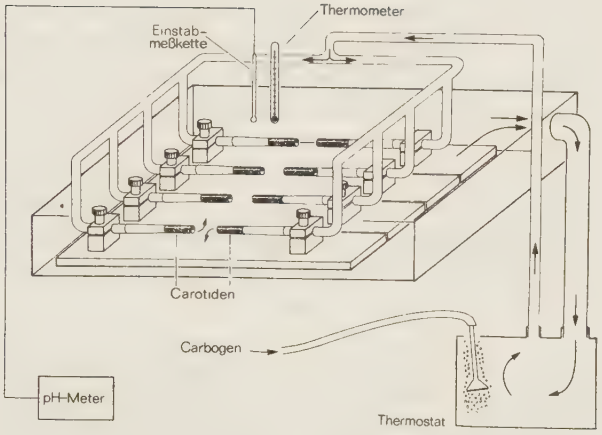

Abb. 1.1 Carotiden-Perfusionsystem

Die Nährlösung in der Durchströmungskammer bestand aus einer modifizierten Krebs-Lösung (Bülbring 1953). Die Oxigenierung erfolgte durch kräftiges Begasen der Nährlösung mit Carbogen (95% O_2, 5% CO_2) unter pH-Kontrolle. So wurde die Konstanz des pH-Wertes bei 7,38 gewährleistet. Ein Thermostat (Haake Typ FE) sorgte für Temperaturkonstanz bei 37°C.

Dem Nährmedium wurde Alt-Insulin (2 mI.U./ml) zugegeben, in den Applikationsserien außerdem Jodacetat (4 mMol/l Nährlösung). Die Zugabe von Insulin hatte sich als sinnvoll erwiesen, da der ATP-Gehalt der Kontrollserien mit Insulin im Nährmedium (2058 ± 259 nMol/g Trockengewicht) doppelt so hoch war wie ohne Insulin (924 nMol/g Trockengewicht).

Die Perfusionsdauer betrug bei den Kontrollserien (ohne Jodacetat) 8 h, wobei nach 15, 30, 45, 60, 120, 240 und 480 Minuten Proben zur Analyse ent-

nommen wurden. Die Bestimmung der ersten Probe zum Zeitpunkt Null geschah nach Entnahme der Carotis aus dem Tier und nach Entfernung der Adventitia. In der ersten Kontrollserie ging dieser Punkt aus experimentellen Gründen verloren. Jedes Carotispaar wurde in acht Anteile, entsprechend der Probenzahl, zerschnitten. Jede Probe setzte sich, um die biologische Streuung zu verringern, in der ersten Kontrollserie aus Carotisabschnitten von vier Hunden und in der zweiten Kontrollserie von drei Hunden zusammen.

Bei den Applikationsserien (mit IAA) wurden die Carotiden für 4 h unter Kontrollbedingungen perfundiert (C.1.1), bevor die Zugabe von Jodacetat stattfand. Die Probenentnahme geschah in folgenden Zeitabständen: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 300, 600, 1200 Sekunden. Der Punkt Null war der Wert nach 4 h; er lag vor der IAA-Zugabe.

Da alle dreizehn Punkte aus einem Carotispaar gemessen werden sollten, die Zerschneidung der Carotis aber nur in maximal zwölf Teile gelang, mußten einzelne Punkte ausgelassen werden, in den Serien 1, 2 und 4 der 1200 Sekunden-Wert, in den Serien 2 und 3 der 600 Sekunden-Wert. Durch experimentelle Schwierigkeiten fielen in der Serie 2 weitere zwei Punkte aus (10 s und 180 s). Serie 4 (Vorversuch) bestand aus insgesamt acht Punkten. Ferner erwies sich die Extraktmenge als limitierender Faktor, so daß es in der Serie 3 nicht bei allen Metaboliten möglich war, den letzten Punkt (1200 s) zu messen (siehe die Tabellen).

Jeder Meßpunkt setzte sich aus sechs Carotisabschnitten zusammen, die von sechs verschiedenen Carotispaaren stammten. Jede Serie bestand aus sechs Hunden. Die Zusammensetzung der Proben für die einzelnen Meßpunkte geschah nach folgendem Modus: Jedes Carotidenpaar wurde in insgesamt zwölf Stücke zerschnitten und so zu Meßproben zusammengefaßt, daß von jedem Hund ein Carotidenanteil dabei war. Die Carotisabschnitte für einen Meßpunkt wurden zusammen zu einem Extrakt aufgearbeitet. Diese Prozedur erfolgte, um die biologische Streuung der Metabolite der einzelnen Carotidenpaare weitmöglichst auszuschalten.

3. Das Stoppen der enzymatischen Tätigkeiten

Die enzymatische Tätigkeit wurde nach dem Verfahren von Wollenberger et al. (1960) (mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlte Aluminiumbackenzange) gestoppt. Der Frierstopp erfolgte so, daß die Zangenbacken senkrecht, unmittelbar über die perfundierten Carotiden, gehalten wurden, die Carotiden am Nylonfaden im Bruchteil einer Sekunde zwischen die Backen gezogen wurden und diese dann ebenso schnell zusammengeschlagen wurden. Durch das Zusammenschlagen gelang es, die Carotiden äußerst schmal zusammenzupressen, so daß die Durchkühlung in einem Zeitraum von Millisekunden jegliche enzymatische Tätigkeit beendete. Das in den Carotiden befindliche Nährmedium wurde durch das Zusammenschlagen der Zangenbacken ausgepreßt und konnte leicht abpräpariert werden.

4. Die Extraktbereitung

Das gefrorene Gewebe wurde in einem ebenfalls auf -196°C abgekühlten Mörser zerkleinert. Zur Trockengewichtsbestimmung wurden ca. 100 mg Gewebspulver entnommen und bei 120°C zwei Stunden bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Wassergehalt der Probe wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$\frac{\text{Feuchtgewicht}}{\text{Trockengewicht}} - 1 = H_2O/g \text{ Trockengewicht}$$

Zur Extraktbereitung wurden ca. 500 mg in ein durch Trockeneis (CO_2, -80°C) vorgekühltes Reagenzglas eingewogen. Dazu gab man die 2,5-fache Menge des eingewogenen Gewebes an 6%-iger Perchlorsäure (PCA) und mischte mit einem Stab sofort die Säure mit dem Gewebe. Das geschah vorsichtig im Eisbad, um den Extrakt bei 0°C zu halten. Anschließend wurde unter Eis-Kochsalz-Kühlung ultrazerschallt mit dem Sonifier B12, cell disrupture. Um eine durch die Beschallung bedingte Erwärmung des Extrakts über 0°C auszuschließen, wurde die Temperatur über einen NTC-Widerstand laufend gemessen und zwischen jedem Zerschallungsintervall von 5 s eine Pause von 10 s eingelegt. Der Beschallungs-Kühlungszyklus wurde 10-mal durchgeführt, d.h. solange, bis alle Zellmembranen zerstört waren.

Der aufbereitete Extrakt wurde 15 Minuten bei 15 000 x g (+4 bis +6°C) zentrifugiert (Sorvall Superspeed RC 2-B) und dann in graduierte Zentrifugen-

gläser gegossen. Der gemessene Überstand wurde mit 1 M TRA (4% der PCA-Menge) und 3 N K_2CO_3 (16% der PCA-Menge) im Eisbad auf pH 6,0 bis 6,5 neutralisiert. Dieser Extrakt wurde vom entstandenen Perchlorat abgegossen und nochmals 10 Minuten lang bei 10 000 x g (+4 bis +6°C) zentrifugiert.

5. Der enzymatische Test

Die Substrate ATP, ADP, AMP, Creatinphosphat, Creatin, G-6-P, α-GP, Pyruvat, Lactat, Malat und β-HOB wurden nach der Endwertmethode im optischen Test (Warburg u. Christian 1936) bestimmt. Lactat und Creatin wurden durch Extinktionsmessung am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II gemessen, die anderen Metabolite auf der Grundlage der NADH-Fluoreszenz am Eppendorfphotometer mit Fluoreszenzzusatz bei gleichzeitiger Registrierung mit dem Eppendorf-Registrieradapter 2134 und einem Servogor-Kompensationsschreiber. Die optischen Tests wurden nach den Angaben von H.U. Bergmeyer (1970) durchgeführt, wobei einige modifiziert werden mußten. Die Fluoreszenzmessungen wurden unter Bezug auf einen Standard des jeweiligen Substrates durchgeführt, dessen molare Konzentration zuvor durch Extinktionsmessung am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II bestimmt wurde. Jede Probe wurde doppelt bestimmt und hieraus der Mittelwert gebildet (siehe Tabellen). Die Dosierung erfolgte mit der entsprechenden Mikroliterpipette Marburg von Eppendorf.

6. Berechnungen und Abbildungen

Von jedem Metabolit jeder Serie und den berechneten Größen (Summen und Quotienten) wurde eine Tabelle angefertigt. Die Tabellen wurden fortlaufend numeriert. Die Tabellen der am Rechner ermittelten Daten erhalten den Index a. Außerdem wurden aus den Einzelwerten jedes Metaboliten einschließlich der berechneten Größen der beiden Kontrollserien und der drei Applikationsserien die Mittelwerte (Standardabweichung des Mittelwertes, Diehl Combitron S) berechnet (Tabelle 1-38). Diese Werte sind in den Tabellen unter der Rubrik M ± SD eingetragen. Jeder einzelne Metabolit jeder Serie, sowie die berechneten Werte (Summen und Quotienten) wurden in ihrem zeitlichen Verlauf als Einzelkurven dargestellt. Außerdem wurden die Einzelkurven jedes Metaboliten der zwei Kontrollserien, der drei Applikationsserien und die hieraus berechneten Größen zu einer Mittelwertskurve (± SD) zusammengefaßt. Die Darstellung erfolgte durch einfache graphische Interpo-

lation (Graphomat, Zuse Z64). Die Abbildungen wurden mit Nr. 2 beginnend fortlaufend durchnumeriert. Die Mittelwertskurven erhalten den Index 0 (Null), die zwei Kontroll- bzw. die drei Applikationsserien die entsprechenden Indices 1, 2 oder 3, z.B. wird die Mittelwertskurve der Applikationsserie von ATP als Abb. 9.0 zitiert. Die am Rechner ermittelten Kurvenverläufe erhalten, wie es bei den Tabellen praktiziert wurde, Buchstabenindices, z.B. wird ATP als Abb. 9.a zitiert. Abbildungen im Textteil erhalten die Nummer 1 mit fortlaufenden Zahlenindices. Am Ende der Arbeit erscheinen die Tabellen und Abbildungen.

Die einzelnen Meßwerte wurden auf einem Telefunken Großrechner TR 440 mit Hilfe eines nichtlinearen Fit-Programmes der Funktion

$$f(x) = a \cdot e^{-bx}(1 + c \cdot \sin \frac{d}{e+x})$$

angepaßt (Abb. 9-15 mit Buchstabenindices). Die jeweilige Idealkurve wurde unter Gewichtung der Meßpunkte entsprechend ihren Streuungen iterativ gefunden. Dabei ergaben sich in allen Fällen fehlerfreie Lösungen.

Betrachtet man die Kontrollserien, z.B. ATP, Abb. 2.0,1,2, dann zeigt sich, daß der Kurvenverlauf mit dem einer Sinusschwingung vereinbar ist. Um diesen möglichen Verlauf zu charakterisieren, wurden der Amplitudenmittelwert (mittlerer Konzentrationsspiegel über 8 h) und die durchschnittliche Schwingungsamplitude berechnet. Zum Vergleich der Applikations- mit den Kontrollserien wurde die durchschnittliche Schwingungsamplitude der ersten 180 Sekunden der Applikationsserien berechnet. Der Amplitudenmittelwert der Applikationsserien wurde aus deren erster Schwingung ermittelt.

Bei den Applikationsserien (Tabelle 20-38, Spalte P) wurden außerdem Signifikanztests nach der Student-Verteilung vorgenommen (Documenta Geigy 1969).

C. ERGEBNISSE

1. Das Verhalten ausgewählter Stoffwechselgrössen in ruhender Gefässmuskulatur ohne und mit Jodacetat

1.1. DIE RUHENDE GEFÄSSMUSKULATUR (KONTROLLSERIEN)

Der glatte Gefäßmuskel ist zu jedem Zeitpunkt durch eine bestimmte Zustandsform charakterisiert, die zwischen Ruhe und höchster Aktivität wechseln kann. Für vergleichende Versuchsserien gilt als conditio sine qua non, daß sie von konstanten Ausgangspositionen starten. Am leichtesten zu reproduzieren und am besten zu definieren ist der Ruhezustand. Dieser kann sodann als Vergleichsgröße gegenüber Aktivitätszuständen herangezogen werden. Mißt man die Konzentrationen von Stoffwechselprodukten, dann läßt sich unter bestimmten Voraussetzungen der Ruhezustand charakterisieren und das Ausmaß der Aktivitätsänderung quantitativ erfassen.

Gut geeignet für Stoffwechseluntersuchungen sind Bestimmungen von Substraten und Produkten derjenigen Enzyme, die Kreuzungspunkte darstellen. Bei Zunahme der Enzymaktivität sinkt in einem solchen Fall die Konzentration des Substrats und seiner Vorläufer, während die Konzentration des Produkts und seine Nachfolger ansteigen und umgekehrt (Ghosh a. Chance 1964).

Derartige Bestimmungen von Metaboliten sind an der Arteria carotis des Hundes nach Entnahme aus dem Gesamtorganismus vorgenommen worden. Dabei war es aus den oben genannten Gründen wichtig, den Ruhezustand nach der Entnahme zu bestimmen. Ein Ruhezustand der Stoffwechselgrößen ist dann erreicht, wenn Konstanz der Stoffwechselgrößen eintritt (steady state).

Der zeitliche Verlauf der Metabolitspiegel im ruhenden Gefäßmuskel kann in zwei Abschnitte gegliedert werden: Der erste umfaßt den Zeitraum bis ungefähr 2 h nach der Entnahme und zeichnet sich durch eine starke Stoffwechselunruhe aus (Abb. 2-8.0,1,2). Vergleiche der Anfangswerte ergeben hohe Werte von Lactat (Abb. 6.2) und Malat (Abb. 8.1) und geringe von ß-HOB (Abb. 8.2) und Pyruvat (Abb. 6.2) und einen starken Abfall von α-GP (Abb. 5.1,2). Dies deutet darauf hin, daß das Gewebe unmittelbar nach seiner Entnahme anoxisch war. Ebensowenig können zu diesem Zeitpunkt optimale ionale, pH- und Tempe-

raturverhältnisse vorgelegen haben, was sich aus dem überdurchschnittlichen Abfall von z.B. ATP (Abb. 2.2) schließen läßt. Die Streuungen der Mittelwerte der ersten Werte aller Kurven sind beträchtlich und deuten auf eine unterschiedliche Beeinflussung der Enzymsysteme nach der Entnahme hin.

Der zweite Abschnitt der Kontrollserien schließt sich dem ersten fließend an, ohne einen genauen Trennungspunkt erkennen zu lassen und zeigt eine Stabilität der Stoffwechselgrößen dadurch, daß nur noch geringe Streuungen der Mittelwerte auftreten (Abb. 2-8.0). Weiterhin wird deutlich, daß sich die Metabolite zwischen einem oberen und unteren Grenzbereich bewegen. Dieser zweite Zeitraum eines dynamischen Ruhegleichgewichts soll nun unter Heranziehung bestimmter Metabolitgruppen besprochen werden.

1.1.1. DAS VERHALTEN VON STOFFWECHSELGRÖSSEN DES ADENYLAT- UND CREATINKINASESYSTEMS

"Fundamentale chemische Bedürfnisse der lebenden Zelle sind Biosynthese, Energie (ATP) und Redoxpotential". ("The fundamental chemical needs of a living cell are primary biosynthetic intermediates, energy (ATP), and reducing power (TPNH)" (Atkinson 1968)).

Die Homöostase dieser Größen ist ebenfalls nach den Prinzipien der selbstregulatorischen Rückkopplung garantiert. Als bekannte Regulationsgrößen dienen dabei sowohl die Endprodukte der Biosynthesewege als auch die Energiebeladung (A.3.a) . Die Verbindung zwischen beiden Regulationsgrößen besteht darin, daß die Endprodukte als Effektoren die Aktivität der Enzyme bei einer bestimmten Energiebeladung variieren können. Bei dem physiologischen Wert von 0,85 ist die Energiebeladung stark gepuffert. Große Veränderungen der Aktivitäten der ATP-produzierenden Enzymsysteme bedingen nur geringe Änderungen der Energiebeladung (Atkinson 1968, Atkinson a. Walton 1967, Klungsøyr et al. 1968, Shen et al. 1968). Berechnet man die Energiebeladung aus den Tabellen 2, 3 und 4, so liegen alle Werte in einem annähernd physiologischen Bereich von 0,77 ± 0,02 (Tabelle 1).

Der ATP-Gehalt des Gefäßmuskels liegt im Mittel aller über 8 h gemessenen Werte bei einem Amplitudenmittelwert von 2050 nMol/g Trockengewicht. Dies ent-

spricht allgemeinen Literaturangaben (Somlyo a. Somlyo 1968). Es besteht eine Schwingungsamplitude von ungefähr 260 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 2). Der Amplitudenmittelwert von ADP liegt bei 690 nMol/g Trockengewicht und hat eine Schwingungsamplitude von ungefähr 80 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 3), das sind rund 33% des ATP-Wertes. Der Amplitudenmittelwert von AMP liegt bei 355 nMol/g Trockengewicht mit einer Schwingungsamplitude von ungefähr 25 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 4), das sind 17% des ATP-Wertes. ATP bewegt sich permanent zwischen einem oberen und unteren Grenzbereich. Von einem Amplitudenmittelwert aus ändert sich ATP um ±12% (Abb.2.0). Dieser Wechsel ist allerdings nicht von einer gleich großen Veränderung der komplementären Adenin-Nukleotide ADP und AMP begleitet (Abb.2.0). Das zeigt sich in den Schwankungen der Mittelwertskurve der Summe aller Adenin-Nukleotide (Abb.2.0).um einen Amplitudenmittelwert von 3100 nMol/g Trockengewicht, mit einer durchschnittlichen Schwingungsamplitude von 330 nMol/g Trockengewicht (Tab. 5). Die Schwingungsamplituden von ATP, ADP und AMP sind prozentual von gleicher Größenordnung (ca. 10%). Deren Konzentrationen steigen jedoch vom AMP zum ATP um ungefähr eine Zehnerpotenz. Daher stellt sich die Frage, in welche anderen Formen ATP außerdem noch um- oder abgebaut werden kann.

Es ist schon lange bekannt, daß in fast allen Geweben Enzyme vorkommen, die den Abbau von ATP über ADP zu anderen Stufen weiterleiten. Gut untersucht ist z.B. die Desaminierung zu IMP (Conway a. Cooke 1939, Gerlach u. Lübben 1959):

$$AMP \rightleftharpoons IMP + NH_3$$

Im glatten Muskel, ebenso im Herzmuskel, überwiegt jedoch der Abbau der Nukleotide durch primäre Dephosphorylierung:

$$AMP \rightleftharpoons Adenosin + Phosphat\ (P_i)$$

Erst jetzt erfolgt die Desaminierung der Nukleoside (Conway a. Cooke 1939, Benson et al. 1961, Richman a. Wyborny 1964):

$$Adenosin \rightleftharpoons Inosin + NH_3$$

Vom Adenosin ist bekannt, daß es ein starker Dilatator zumindest der Herzkranzgefäße ist (Berne 1963). Diese Schemata zeigen den möglichen Verlauf qualitativ und dienen nicht der quantitativen Abschätzung.

Den Abbauenzymen bis zu dieser Stufe stehen Aufbauenzyme, vor allem in den Erythrozyten und im Herzmuskel gegenüber. Dabei erfolgt die Resynthese vornehmlich auf der Stufe von Adenin oder Hypoxanthin durch Reaktion mit Phosphoribosyl-Pyrophosphat (PRPP) (Goldthwait 1957, Barlett a. Shafer 1961, Bishop 1960, Lowy et al. 1960, Kornberg et al. 1955):

Adenin o. Hypoxanthin + PRPP $\rightleftharpoons$ AMP o. IMP + PP

Die Schlüsselposition für den Aufbau liegt in der Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Synthetase, einem Enzym, das entscheidend von der Energiebeladung der Zelle, dem Quotienten ATP/ADP und den Purin-Nukleotiden gesteuert wird (Switzer a. Sogin 1973, Fox a. Kelley 1972, Klungsøyr et al. 1968).

Der Auf- und Abbau des ATP unterliegt einer Gesetzmäßigkeit, weil der absolute ATP-Wert sich zwischen einem oberen und unteren Grenzwert bewegt, und diese Veränderungen eine Periodizität aufweisen (Abb. 2.0).

Es sieht so aus, als ob in der ersten Stunde eine erste Schwingung erfolgt und eine zweite in den nächsten 7 h. Da die Meßpunkte sehr weit auseinander liegen, läßt sich jedoch nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich tatsächlich nur um zwei Perioden handelt und wie diese Perioden in ihrem Ablauf genau aussehen. Der glatte Muskel scheint im Ruhezustand langsame Schwingungen um einen Mittelwert auszuüben, deren Amplitude konstant ist und deren Schwingungsperiode Stunden dauert. Daß die erste Schwingung schneller als die zweite ist, könnte durch die vorherrschende Form der initialen Anoxie nach der Entnahme bedingt sein. Im anoxischen Zustand kommen die oszillatorischen Eigenschaften der Metabolite besser zur Geltung (Chance et al. 1964a, Hommes a. Schuurmans-Stekhoven 1964)(Abb. 2.0,1,2).

In der Diskussion um die Regulation von Enzymaktivitäten ist der ATP/ADP-Quotient von Interesse (Switzer a. Sogin 1973, Atkinson a. Walton 1967). Der Amplitudenmittelwert liegt bei rund 3,0 und hat eine Schwingungsamplitude

von ungefähr 0,16 (Tabelle 6). Der Verlauf der Mittelwertskurve in Abb.3.0 ist dem von ATP naturgemäß entsprechend.

Der Myokinasequotient zeigt relativ stabile Werte seiner Amplitudenmittellage von durchschnittlich 1,6 mit einer Schwingungsamplitude von 0,26 (Tabelle 7). Der Verlauf der Mittelwertskurve zeigt jedoch eine entgegengesetzte Tendenz gegenüber dem ATP (Abb. 3.0). Wie die Gesamtkurve des Myokinasequotienten, so ist auch der Verlauf der Kurve des Creatinkinasequotienten der ATP-Kurve entgegengesetzt (Abb. 3.0). Dies ist ein weiteres Indiz dafür, daß bei ATP-Anstieg die Bildung seines Ausgangsproduktes, des ADP, stattfindet, gleichzeitig aber auch eine Bildung von Creatinphosphat. Der mittlere Wert des Creatinkinasequotienten beträgt 1,2. Er hat eine Schwingungsamplitude von ungefähr 0,25 (Tabelle 8). Da bei der Bildung von ATP gleichzeitig über die Creatinkinasereaktion Creatinphosphat entsteht, steigt bei jedem Anstieg von ATP auch das Creatinphosphat (Abb. 4.0). Beim Abfall des ATP wird das entstehende ADP durch Creatinphosphat wieder phosphoryliert. Letzteres nimmt also bei starkem ATP-Verbrauch ebenfalls ab. Der mittlere Wert des Creatinphosphats liegt bei 2800 nMol/g Trockengewicht. Es besteht eine Schwingungsamplitude von rund 150 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 9). Der prozentuale Anteil von Creatinphosphat, der also Veränderungen um einen Amplitudenmittelwert unterliegt, ist dem des ATP annähernd gleich.

Genau invers zum Creatinphosphat verhält sich sein Dephosphorylierungsprodukt Creatin (Abb.4.0).Der Mittelwert liegt bei 1100 nMol/g Trockengewicht. Die Schwingungsamplitude beträgt 170 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 10). Demnach ist auch die Summe von Creatinphosphat und Creatin mit 3900 nMol/g Trockengewicht relativ konstant (Tab. 11), der CrP/Cr-Quotient bringt das gegensinnige Verhalten der Metabolite (Abb. 7.0) durch die hohe Amplitude seiner Schwingung (0,5) gut zur Geltung. Sein Mittelwert liegt bei 2,7 (Tab. 12).

1.1.2. DAS VERHALTEN VON STOFFWECHSELGRÖSSEN DER GLYKOLYSE

Das Schlüsselenzym der Glykolyse ist die PFK (Abschnitt A.4.) (Hess a. Boiteux 1968). Da die PFK ein typisches Kreuzungspunktenzym ist, nimmt ihr Substrat bei jeder Aktivierung ab. Als indirektes Substrat wurde hier G-6-P gemessen, dessen Mittelwert bei 90 nMol/g Trockengewicht liegt. Die Schwingungsamplitude beträgt 20 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 13). An-

dere Reaktionswege des G-6-P, wie z.B. der Pentosephosphatzyklus und die Zuckerphosphorylierung können im Rahmen dieser Arbeit nicht verfolgt werden. Vergleicht man die Mittelwertskurve von G-6-P (Abb. 5.0) mit der von ATP (Abb. 2.0), dann läßt sich entnehmen, daß ein Abfall von G-6-P von einem Anstieg von ATP gefolgt wird. Die ATP-Produktion ist demnach eine Funktion der Aktivität der Glykolyse. Ferner nimmt bei jeder Aktivitätssteigerung das nach dem Kreuzungspunkt PFK in einem Seitenweg liegende α-GP zu.

Der Mittelwert von α-GP liegt bei 160 nMol/g Trockengewicht. Die Schwingungsamplitude beträgt 125 nMol/g Trockengewicht. Die hohe Amplitude ist durch die großen Abweichungen zu Beginn der Versuchsserie zu erklären (Tabelle 14).

Stimulation der PFK bedeutet eine ebensolche der PK (Hess a. Boiteux 1968). Da Pyruvat das Produkt eines Enzyms (PK) mit der Eigenschaft eines Kreuzungspunktes ist (Hess a. Boiteux 1973), steigt der Pyruvatspiegel an. Dessen Mittelwert liegt bei 340 nMol/g Trockengewicht. Seine Amplitude beträgt 75 nMol/g Trockengewicht (Tab. 15).

Der Quotient $\frac{\text{Lactat}}{\text{Pyruvat}}$ ist ein empfindlicher Indikator für den Redoxzustand der Zelle. Das Verhalten dieses Quotienten ergibt sich aus Abb. 7.0, der Mittelwert beträgt 10, die Schwingungsamplitude 1,8 (Tabelle 17). Bei jeder Aktivitätssteigerung der PFK sinkt der L/P-Quotient. Aus Abb. 6.0 ist ersichtlich, daß sich Lactat invers zum Pyruvat verhält. Bei Aktivierung der Glykolyse und damit bei Anstieg des Pyruvats nimmt das Lactat, verglichen mit seinem höchsten Wert, nicht zu, sondern ab. Dies bedeutet zugleich, daß das vermehrt gebildete Pyruvat nicht in Lactat umgewandelt wird, sondern vermehrt in den Citratzyklus einmündet. Der Mittelwert von Lactat beträgt 3440 nMol/g Trockengewicht, die Schwingungsamplitude 990 nMol/g Trockengewicht (Tabelle 16). Die hohe Amplitude ist durch die starken Veränderungen zu Beginn der Kontrollserie bedingt.

1.1.3. DAS VERHALTEN DER STOFFWECHSELGRÖSSEN MALAT UND ß-HYDROXYBUTYRAT

Als charakteristische Größe für das Verhalten des Citratzyklus wurde Malat gewählt, das außerdem, wie Lactat, α-GP und ß-HOB, als Wasser-

stoffdonator für den NADH/NAD-Pool wirkt. ß-HOB stammt aus dem in den Mitochondrien ablaufenden Fettstoffwechsel und kann als Substrat für die Atmung dienen (Chance a. Williams 1955a).

Während die Redoxprozesse Malat/Oxalacetat und ß-Hydroxybutyrat/Acetoacetat in den Mitochondrien stattfinden, ereignen sich die von Lactat/Pyruvat und α-Glycerophosphat/Dihydroxyacetonphosphat im Cytosol. Hierin scheint der Grund zu liegen, daß Malat und ß-HOB (Abb. 8.0) am Anfang der Kontrollserien entgegengesetzt zu α-GP (Abb. 5.0) verlaufen. Der Verlauf der Malatkonzentration ist aus der Mittelwertskurve nach Erreichen des Ruhegleichgewichts (Abb. 8.0) nicht entnehmbar. Wie sich später noch zeigen wird, entspricht er aber dem des ATP, d.h. bei gesteigerter Produktion von ATP nimmt Malat zu. Der Mittelwert liegt bei 80 nMol/g Trockengewicht, die Amplitude bei 55 nMol/g Trockengewicht. Die hohe Abweichung ist durch die großen Veränderungen zu Beginn der Versuchsserie zu erklären (Tab. 18). ß-HOB verhält sich zu Malat invers (Abb. 8.0), wie sich später bei den Applikationsserien genauer zeigen wird. Dies deutet darauf hin, daß es als Substrat für den Citratzyklus vor einem Kreuzungspunkt liegen muß. Der Mittelwert liegt bei 15 nMol/g Trockengewicht, die Amplitude bei 4 nMol/g Trockengewicht. Auch hier ergibt sich die hohe Amplitude durch die starken Veränderungen zu Beginn der Kontrollserie (Tab. 19).

1.2. DIE RUHENDE GEFÄSSMUSKULATUR NACH JODACETATAPPLIKATION (APPLIKATIONSSERIEN)

Die zunächst aktivierende und dann hemmende Wirkung von Jodacetat wurde in Abschnitt A.5. beschrieben. Diese beiden Phasen können in allen Jodacetatapplikationsserien unterschieden werden, wobei die erste Phase ungefähr in den ersten drei Minuten nach Jodacetatapplikation abläuft. In der folgenden Besprechung der Metabolite wird nur die erste Phase berücksichtigt werden, da sich hierbei die für diese Arbeit interessanten aktivierenden Einflüsse des Jodacetats ereignen. Die vergiftenden Wirkungen wurden bereits früher beschrieben (Webb 1966).

An den Kontrollserien erkennt man, daß die ATP-erzeugenden Enzymsysteme nach 4 h Äquilibrierung einen geringen Aktivitätszustand erreicht haben, die ATP-Produktion niedrig ist und gleichzeitig ein starker ATP-Verbrauch vorliegt. Die ATP-Konzentration befindet sich in einem Schwingungstal (Abb. 2.0-8.0). Hier

liegt also ein optimaler Zeitpunkt für Stimulationsversuche. Er wird in Zukunft als Nullpunkt bezeichnet. Die Meßdaten zu diesem Zeitpunkt setzen sich sowohl aus solchen der Kontrollserien als auch der Applikationsserien, die hier beginnen, zusammen. In den Applikationsserien wurden die Metabolite zu den oben angegebenen Zeiten (B.2.) gemessen. Zur grafischen Darstellung wurden die einzelnen Punkte jeder Serie interpolierend (Graphomat Zuse Z64) miteinander verbunden (Abb. 9-15.0,1,2,3). Nur die Mittelwertskurve der einzelnen Metabolitserien soll immer besprochen werden. Die Einzelkurven sind ebenfalls dargestellt. Das bei den Mittelwertskurven diskutierte Phänomen der Konzentrationsoszillation ist auch hier besonders deutlich erkennbar. Die Einzelkurven wurden mit den Indices 1, 2 und 3 versehen. Die Mittelwertskurven 9.0-15.0 setzen sich aus den Werten dieser drei Serien sowie der vierten, unvollständigeren Serie (Vorversuche, Siegel et al. 1969) zusammen.

Es stellte sich heraus, daß die Metabolitkonzentrationen periodischen Änderungen unterworfen sind. Die Analyse der Meßergebnisse unter Berücksichtigung der Einzelkurven, eine Signifikanzprüfung der Metabolitoszillationen (Student-Verteilung, P-Spalte der Tabellen (20-38) und der Vergleich der verschiedenen Metabolite miteinander ergaben folgendes theoretische Konzept: Die Applikation von Jodacetat induziert eine hochfrequente Oszillation sämtlicher gemessenen Metabolite. Die Zeitfunktion dieser Oszillationen kann jeweils durch Kurven mit folgenden Eigenschaften beschrieben werden:

1. Sinusschwingung,
2. die Schwingung ist einer abfallenden e-Funktion überlagert,
3. die Schwingung verläuft nach einer e-Funktion amplituden- und frequenzgedämpft,
4. es treten Phasenverschiebungen der Metabolitkonzentrationen auf.

Unter Zugrundelegung der genannten Eigenschaften wurde eine empirische Funktion entwickelt. Die gemessenen Werte wurden dieser Funktion (siehe B.6.) mit Hilfe eines nichtlinearen Fit-Programms angepaßt. In allen Fällen konnten ideale Kurvenverläufe durch die Meßpunkte iterativ ermittelt werden.

Ein Beispiel für die oben genannten Zusammenhänge der Punkte 1.-4. zeigt Abb. 1.2 anhand der Metabolite ATP und G-6-P, sowie Abb. 1.3 anhand von CrP und Cr.

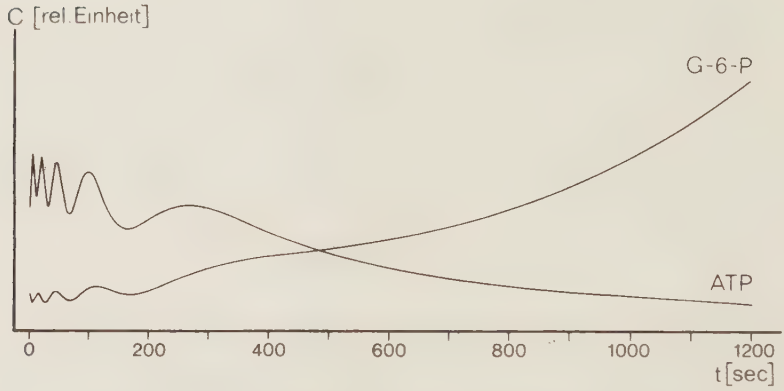

Abb. 1.2: (Phasenverschobener) Schwingungsverlauf der Konzentrationen der Metabolite ATP und G-6-P

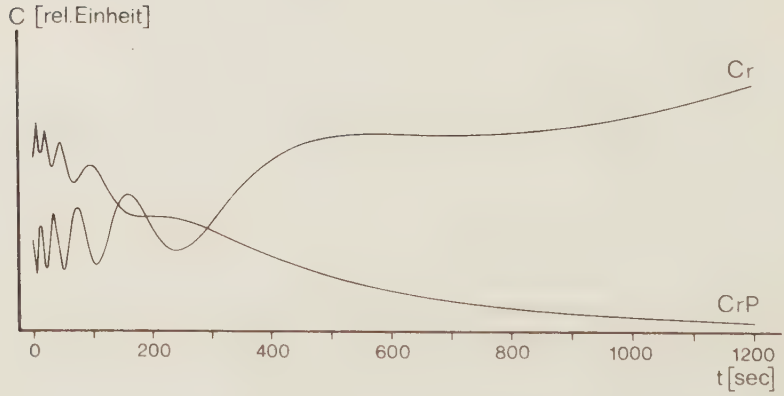

Abb. 1.3: (Phasenverschobener) Schwingungsverlauf der Konzentrationen der Metabolite CrP und Cr

1.2.1. DAS VERHALTEN VON STOFFWECHSELGRÖSSEN DES ADENYLAT- UND CREATINKINASESYSTEMS

Der Nullpunkt von ATP liegt bei 1650 nMol/g Trockengewicht. Die Oszillationen haben eine Amplitude von 350 nMol/g Trockengewicht um eine Schwingungsmittellage von 2000 nMol/g Trockengewicht (Tab. 20a, Abb. 9.a). Die Amplituden der Applikations- und Kontrollserien sind nahezu gleich (ATP: Tab. 2, 20; Abb. 2.0, 9.0). Die Schwingungen der Kontroll- und Applikationsserien bewegen sich um dieselbe Mittellage mit gleich großer Amplitude mit der Ausnahme, daß die jodacetatinduzierten um mindestens zwei Zehnerpotenzen schneller ablaufen. Dieses Phänomen tritt auch bei allen anderen Metaboliten auf und wird zum besseren Verständnis in Abb. 1.4 schematisch dargestellt. Hierbei wurde in die Kontrollserien beim Zeitpunkt 4 h immer der Verlauf der

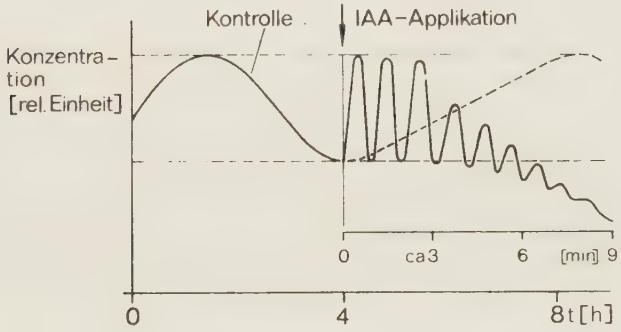

Abb. 1.4: Schematischer Verlauf der Kontrollserien mit den Applikationsserien

Applikationsserien zusätzlich eingezeichnet. Zitiert wird jeweils die Mittelwertskurve der Kontroll- und Applikationsserien sowie die am Computer iterativ ermittelte Kurve. Da die Abbildungen stets den Verlauf mehrerer Metabolite

angeben, wird der zu zitierende Metabolit immer am Anfang angeführt, z.B. (ATP: Tab. 2, 20; Abb. 2.0, 9.0 und Tab. 20a; Abb. 9.a),

Der Nullpunkt von ADP liegt bei 610 nMol/g Trockengewicht. Die Oszillationen haben eine Amplitude von 35 nMol/g Trockengewicht (Tab. 21a). Sie ist demnach niedriger als die Amplitude in den Kontrollserien, die bei 80 nMol/g Trokkengewicht liegt (ADP: Tab. 3, 21; Abb. 2.0, 9.0). In beiden Serien bewegen sich die Amplituden aber annähernd um denselben Amplitudenmittelwert von rund 650 nMol/g Trockengewicht. Der Kurvenverlauf von ADP ist annähernd linear (Abb. 9.b), ADP folgt demnach nicht oder nur in geringem Ausmaß den Veränderungen des ATP. Daraus kann man schließen, daß ATP nur das Stadium ADP durchläuft. Infolgedessen kommt es nicht zu signifikanten Konzentrationsänderungen von ADP.

Vergleicht man die AMP-Spiegel der Kontrollserien (Tabelle 4) mit denen der Applikationsserien (Tabelle 22), so sind die Spiegel von AMP in den Kontrollserien etwa dreimal so groß wie in den Applikationsserien. Dies schlägt sich auch in der Berechnung des Myokinasequotienten nieder, der nach Literaturangaben bei 0,8 liegt (Markland a. Wadkins 1966). Die Kontrollserien liegen mit einem Durchschnittswert von 1,6 darüber und die Applikationsserien mit einem Durchschnittswert von 0,5 unter diesem Wert. Wie es zu dieser Abweichung des AMP kommt, ist ungewiß. AMP stellt allerdings das letzte Abbauprodukt des Adenylatsystems dar und wird in unterschiedlichem Ausmaß weiter verstoffwechselt. Wegen dieser Schwankungen kann für AMP, den Myokinasequotienten und die Energiebeladung kein gemeinsamer Nullpunkt bestimmt werden, der sich aus den Kontroll- und Applikationswerten zusammensetzt.

Dividiert man die Kontrollwerte von AMP durch den Faktor 3, dann ergeben sich mit den Applikationsserien fast identische Werte. Der Nullpunkt von AMP liegt bei 95 nMol/g Trockengewicht. Die Oszillationen haben eine Amplitude von 8 nMol/g Trockengewicht um einen Mittelwert von 95 nMol/g Trockengewicht (AMP: Tab. 4, 22; Abb. 2.0, 9.0 u. Tab. 22a; Abb. 9.c). Die Schwingungen des AMP-Spiegels (Abb. 9.c) sind denen des ATP-Spiegels (Abb. 9.a) um 180° phasenverschoben. Innerhalb von zwei Minuten steigt der AMP-Spiegel kontinuierlich um 50% des Ausgangswertes an.

Der Myokinasequotient bleibt bei den Applikationsserien annähernd gleich (0,5). Er zeigt Schwingungen, die mit dem AMP phasengleich verlaufen. Dies ist ein Hinweis dafür, daß beim Anstieg des ATP das Gleichgewicht zugunsten der Bildung von ADP verschoben wird, über dessen Stufe die ATP-Bildung verlaufen muß (siehe oben). Der Mittelwert liegt bei 0,5 und die Amplitude um 0,05. Damit ergibt sich ein Amplitudenmittelwert von 0,45 ($(ATP \times AMP)/ADP^3$): Tab. 7, 24; Abb. 3.0, 10.0 u. Tab. 24a; Abb. 10.a).

Der Nullpunkt der oben definierten Energiebeladung liegt bei 0,83. Die Oszillationen haben nur die geringe Amplitude von 0,02, wobei der Amplitudenmittelwert bei 0,85 liegt (Tabelle 27a, Abb. 10.d). Dieser Wert entspricht den Literaturangaben (Atkinson 1968). Die Abweichungen in der Energiebeladung zwischen Applikations- und Kontrollserien sind auf die schon oben erwähnten unterschiedlichen AMP-Konzentrationen zurückzuführen (Tab. 1, 27).

Die Mittelwertskurve der Summe der Adenin-Nukleotide unterscheidet sich im Frequenzverlauf nicht von der der ATP-Mittelwertskurve. Der Nullpunkt liegt entsprechend den AMP- und ADP-Werten erhöht bei 2400 nMol/g Trockengewicht. Die Amplitude liegt bei 380 nMol/g Trockengewicht und entspricht demnach im wesentlichen der ATP-Schwingungsamplitude. Der Amplitudenmittelwert liegt bei 2700 nMol/g Trockengewicht (ΣA: Tab. 5, 23; Abb. 2.0, 9.0 u. Tab. 23a; Abb. 9.d).

Auf die Wichtigkeit des ATP/ADP-Quotienten bei der Regulation von Enzymaktivitäten wurde schon hingewiesen (Switzer a. Sogin 1973, Atkinson a. Walton 1967). Der Nullpunkt von ATP/ADP liegt bei ungefähr 2,75. Die Oszillationen haben eine Amplitude von ungefähr 0,5 um einen Amplitudenmittelwert von 3,0. Diese Werte decken sich mit denen der Kontrollserien (ATP/ADP: Tab. 6, 25; Abb. 3.0, 10.0 u. Tab. 25a; Abb. 10.b).

Der Nullpunkt von CrP liegt bei 2310 nMol/g Trockengewicht. Die Oszillationen haben eine Amplitude von 260 nMol/g Trockengewicht, der Amplitudenmit-

telwert beträgt 2500 nMol/g Trockengewicht. Der Creatinphosphatgehalt der Kontrollserien liegt um etwa 200 nMol/g Trockengewicht höher als in den Applikationsserien (CrP: Tab. 9, 28; Abb. 4.0, 11.0 u. Tab. 28a; Abb. 11.a). Die Schwingungsamplitude des Creatinsphosphats liegt, verglichen mit der des ATP, etwas geringer bei 100 nMol/g Trockengewicht und wird nach 150 Sekunden minimal. Dann beginnt ein kontinuierlicher Abfall bis auf geringste Werte bei 20 Minuten (114 nMol/g Trockengewicht, Tabelle 28). Während in der Phase bis 180 Sekunden ATP- und Creatinphosphatbildung miteinander gekoppelt sind (siehe oben) ist die Creatinkinasereaktion in der zweiten Phase eindeutig zur ATP-Bildung verlagert.

Betrachtet man den Creatinkinasequotienten, so bestätigt sich dieser Befund. Der Nullpunkt dieses Quotienten liegt bei 1,45. Die Oszillationen haben eine Amplitude von 0,4 um einen Amplitudenmittelwert von 1,26 ((CrxATP)/(CrPxADP): Tab. 8, 26; Abb. 3.0, 10.0 u. Tab. 26a; Abb. 10.c). Zu Beginn ermöglichen die Gleichgewichtsverhältnisse einen Ablauf der Reaktion in beide Richtungen.

Bei Anstieg des ATP nimmt Creatinphosphat zu, und im selben Ausmaß, wie Creatinphosphat ansteigt, nimmt Creatin ab. Der Nullpunkt von Creatin liegt bei rund 1400 nMol/g Trockengewicht. Die Amplitude seiner Oszillation beträgt fast 250 nMol/g Trockengewicht und ist demnach mit der Creatinphosphatamplitude identisch, was zu fordern ist. Der Amplitudenmittelwert befindet sich bei 1300 nMol/g Trockengewicht (Cr: Tab. 10, 29; Abb. 4.0, 11.0 u. Tab. 29a; Abb. 11.b).

Bildet man die Summe von Creatinphosphat und Creatin, so ergibt sich im Idealfall eine Gerade, die bei 3360 nMol/g Trockengewicht liegt. Die Mittelwertskurve der Applikationsserien hat einen Wert von 3400 nMol/g Trockengewicht, die der Kontrollserien einen Mittelwert von 3900 nMol/g Trockengewicht. Die Werte der Kontrollserien liegen höher, weil bei ihnen der CrP- und Cr-Gehalt höher ist (ΣCrP + Cr: Tab. 11, 30; Abb. 4.0, 11.0). Der Nullpunkt des Quotienten CrP/Cr liegt bei 2,0. Seine Schwingungsamplitude beträgt 0,7 und der Amplitudenmittelwert befindet sich bei 2,6. Das reziproke Verhalten der beiden Metabolite kommt in ihrem Quotienten besonders deutlich zum Ausdruck. Die Frequenz gleicht der von CrP. Ab 150 s fällt der Quotient kontinuierlich bis in die Nähe von Null ab (0,05) (CrP/Cr: Tab. 12, 31;

Abb. 7.0, 14.0 u. Tab. 31a; Abb. 14.a).

1.2.2. DAS VERHALTEN VON STOFFWECHSELGRÖSSEN DER GLYKOLYSE

Da G-6-P der "oberen" Glykolyse angehört (Hess a. Boiteux 1973), müssen Schwingungen dieses Metaboliten gegenüber solchen der "unteren" Glykolyse um 80^{o} phasenverschoben sein (Hess 1972). G-6-P liegt außerdem vor einem Kreuzungspunkt (Ghosh a. Chance 1964), so daß es bei Aktivitätssteigerung der Glykolyse abnimmt, also gegenüber Oszillationen des ATP (Tabelle 20a, Abb. 9.a) noch einmal um 180^{o} phasenverschoben ist. Damit liegt es insgesamt um 260^{o} vor dem ATP. Dieser Befund ist aus Tabelle 32a und Abb. 12.a zu entnehmen. Der Nullpunkt liegt bei rund 93 nMol/g Trockengewicht. Die Schwingungsamplitude beträgt 15 nMol/g Trockengewicht, bei einem Amplitudenmittelwert von ungefähr 85 nMol/g Trockengewicht (G-6-P: Tab. 13, 32; Abb. 5.0, 12.0 u. Tab. 32a; Abb. 12.a).

α-GP gehört der "oberen" Glykolyse an und liegt hinter dem Kreuzungspunkt der PFK (Hess a. Boiteux 1973). Daher gehen Oszillationen dieses Metaboliten solchen des ATP um 80^{o} phasenverschoben voran. Dies ist aus Tabelle 33a und Abb. 12.b ersichtlich. Das α-GP der Applikationsserien liegt allerdings doppelt so hoch wie in den Kontrollserien bei 4 h. Ähnlich wie beim AMP kann als Begründung angeführt werden, daß α-GP in andere Stoffwechselwege einmündet. Außerdem stellt α-GP noch eine oxidierbare Substanz dar, die, je nach Redoxzustand eines Gewebes, genutzt werden kann. Der Nullpunkt der Applikationsserien beträgt 775 nMol/g Trockengewicht. Oszillationen mit einer Amplitude von 70 nMol/g Trockengewicht bewegen sich um einen Amplitudenmittelwert von 725 nMol/g Trockengewicht (α-GP: Tab. 14, 33; Abb. 5.0, 12.0 u. Tab. 33a; Abb. 12.b).

Für Pyruvat gilt beim Vergleich der Applikations- mit den Kontrollserien grundsätzlich das gleiche wie für α-GP und AMP (s.o.). In den Kontrollserien liegt die Pyruvatkonzentration nach 4 Stunden Äquilibrierung etwa dreimal so hoch wie in den Applikationsserien. Der Nullpunkt der Applikationsserien beträgt 132 nMol/g Trockengewicht. Die Schwingungsamplitude liegt bei 25 nMol/g Trockengewicht und der Amplitudenmittelwert bei 155 nMol/g Trockengewicht (Pyruvat: Tab. 15, 34; Abb. 6.0, 13.0 u. Tab. 34a; Abb. 13.a). Pyruvat verhält sich aus bereits erwähnten Gründen phasensynchron zum ATP (Abb. 9.a).

Lactat entsteht unmittelbar aus Pyruvat. Die Oszillationen im Kurvenverlauf von Lactat erfolgen genau um 180° gegenüber denen des Pyruvat phasenverschoben. Der Nullpunkt von Lactat beträgt 3200 nMol/g Trockengewicht, seine Oszillationsamplitude rund 325 nMol/g Trockengewicht. Der Amplitudenmittelwert liegt bei 2800 nMol/g Trockengewicht (Lactat: Tab. 16, 35; Abb. 6.0, 13.0 u. Tab. 35a; Abb. 13.b). Auch aus dem Kurvenverlauf von Lactat kann man erkennen, daß die Vergiftung nach etwa 150 Sekunden zu wirken beginnt, da keine weitere Schwingung mehr folgt. Lactat fällt kontinuierlich bis auf 833 nMol/g Trokkengewicht ab. Die Amplitude der Lactatschwingungen ist mit 325 nMol/g Trokkengewicht der von ATP (350 nMol/g Trockengewicht, Tab. 20a) gleich. Ein Teil des ATP wird offenbar bis zu dieser Stufe abgebaut (Sen a. Post 1964).

Oszillationen des L/P-Quotienten sind, ebenso wie die des Lactat, gegenüber denen des Pyruvat um 180° phasenverschoben. Da sich Lactat und Pyruvat reziprok zueinander verhalten, kommen die Schwingungen der Metabolite im Quotienten deutlich zum Ausdruck. Da die Pyruvatkonzentration der Kontrollserien höher ist als in den Applikationsserien (s.o.), kann auch beim L/P-Quotienten kein gemeinsamer Nullpunkt gebildet werden. Der Nullpunkt der Applikationsserien liegt bei 21, die Schwingungsamplitude beträgt 3,0. Der Amplitudenmittelwert findet sich bei 18 (L/P: Tab. 17, 36; Abb. 7.0, 14.0 u. Tab. 36a; Abb. 14.b).

1.2.3. DAS VERHALTEN DER STOFFWECHSELGRÖSSEN MALAT UND ß-HYDROXYBUTYRAT

Bei jeder Steigerung der Aktivität der Glykolyse nimmt auch die des Citratzyklus zu. Das ist erkenntlich an der periodischen Zu- und Abnahme des Malat, die phasengleich mit der des Pyruvat erfolgt. Das gilt für alle Produkte nach einem Kreuzungspunkt.

Der Nullpunkt für Malat liegt bei 23 nMol/g Trockengewicht. Malatoscillationen erfolgen mit einer Amplitude von 7,0 nMol/g Trockengewicht um einen Amplitudenmittelwert von 30 nMol/g Trockengewicht (Malat: Tab. 18, 37; Abb. 8.0, 15.0 u. Tab. 37a; Abb. 15.a).

Die Phasenverschiebung zwischen Oszillationen von ß-Hydroxybutyrat und Malat beträgt 180°. ß-Hydroxybutyrat liegt demnach vor einem enzymatischen

Kreuzungspunkt, dient also als Substrat für die Mitochondrien. Es ähnelt in seinem Verhalten dem G-6-P. Außerdem sind seine periodischen Konzentrationsänderungen ein Hinweis dafür, daß zumindest ein Teil des Fettabbauzyklus Schwingungen ausführen kann. Der Nullpunkt von ß-HOB beträgt 10,5 nMol/g Trockengewicht, seine Schwingungsamplitude 2,0 nMol/g Trockengewicht. Der Amplitudenmittelwert liegt bei 12,0 nMol/g Trockengewicht (ß-HOB: Tab. 19, 38; Abb. 8.0, 15.0 u. Tab. 38a; Abb. 15.b).

D. DISKUSSION

1. Der Aktivitätszustand von Glykolyse und Citratzyklus, die Bildung von ATP und dessen Verbrauch

Das exogene Substrat für die Funktion der Glykolyse ist unter den hier gewählten Bedingungen die Glukose. Glukose mündet als G-6-P in die Glykolyse ein, wird in F-6-P umgewandelt und dann von der PFK als Substrat verbraucht. Bei jeder Stimulation der PFK nimmt G-6-P bei gleichmäßigem Angebot von Glukose ab. Gleichzeitig nehmen die Metabolite der "oberen" Glykolyse nach der PFK zu (Ghosh a. Chance 1964, Hess a. Boiteux 1968), so auch α-GP. Vergleicht man die Oszillationen von G-6-P (Abb. 12.a, Tabelle 32a) mit denen von α-GP (Abb. 12.b, Tabelle 33a), so sind beide um 180° phasenverschoben.

Schwingungen der "unteren" Glykolyse erfolgen gegenüber solchen der "oberen" um 80° phasenverzögert. Durch die PFK beeinflußt die "obere" Glykolyse auch die "untere", so z.B. die PK, die ebenfalls ein Enzym in einem Kreuzungspunkt ist. Steigt demnach bei oszillierender Glykolyse die Aktivität der PFK, so nimmt mit einer Phasenverzögerung von 80° auch die Aktivität der PK zu (Hess 1972). Vergleicht man den Konzentrationsanstieg von α-GP (Abb. 12.b, Tabelle 33a) mit dem von Pyruvat (Abb. 13.a, Tabelle 34a), so steigt Pyruvat um 80° phasenverzögert an.

Jede Schwingung der Glykolyse ist von einer Schwingung der ATP-Konzentration begleitet. ATP (Abb. 9.a, Tabelle 20a) verhält sich dabei phasengleich zum Pyruvat (Abb. 13.a, Tabelle 34a), ist demnach zu α-GP um 80° (Abb. 12.b, Tabelle 33a) und zu G-6-P um 180° + 80° (Abb. 12.a, Tabelle 32a) phasenverzögert. Nun wird aber in den Zellen glatter Muskulatur ATP nicht nur in der Glykolyse, sondern auch in der Atmungskette gebildet. Malat als mitochondrialer Metabolit des Citratzyklus (Abb. 15.a, Tabelle 37a) schwingt phasensynchron mit dem ATP (Abb. 9.a, Tabelle 20a) und ebenso mit dem Pyruvat (Abb. 13.a, Tabelle 34a). Offenbar sind Glykolyse, Citratzyklus und Atmungskette miteinander synchron gekoppelt.

Ähnlich wie G-6-P ein Substrat für die Glykolyse ist, das schließlich bis zum Pyruvat metabolisiert den Mitochondrien angeboten wird (s.u.), ist β-HOB

ein Substrat einer Enzymkette des Fettstoffwechsels, das in die Mitochondrien einmündet. Bei jeder Aktivitätssteigerung der Mitochondrien, kenntlich z.B. am Anstieg des Malat, nimmt ß-HOB ab. Schwingungen von ß-HOB (Abb. 15.b, Tabelle 38a) sind dabei zu denen von Malat (Abb. 15.a, Tabelle 37a) 180^{0} phasenverschoben. Lactat (Abb. 13.b, Tabelle 35a) und der L/P-Quotient (Abb. 14.b, Tabelle 36a) schwingen offenbar in Phasenbeziehung zum Redoxpotential NADH/NAD. Lactat- und Pyruvatoszillationen verhalten sich zueinander gegenphasig. Besonders deutlich kommt dies im Kurvenverlauf von L/P zum Ausdruck, der phasengleiche Schwingungen mit dem Lactat zeigt.

Voraussetzung für die Aktivierung der Mitochondrien ist das Angebot des Phosphatacceptors ADP und von oxidierbarem Substrat (Chance a. Weber 1963). Ist der Gehalt beider Substrate in den Mitochondrien gering, dann ist deren Atemaktivitätsgrad ebenfalls gering (Stufe 1). Bei Angebot von ADP (Stufe 2) gelangen die Mitochondrien erst dann in den höchsten Aktivitätszustand, wenn oxidierbares Substrat angeboten wird (Stufe 3). Dann kehren sie bei Absinken des ADP-Spiegels (Stufe 4) wieder zu minimaler Atemaktivität zurück. Gleichzeitig erlischt, da ADP verbraucht ist und so die Stimulation der Glykolyse fehlt (s.u.), das Substratangebot (Rückkehr zu Stufe 1) (Chance a. Williams 1955b). An diesem Beispiel zeigt sich eine Kontrollfunktion des Adenylatsystems, in diesem Fall des ADP über Enzymaktivitäten. Auf andere Kontrollmetabolite soll in dieser Arbeit nicht eingegangen werden.

Bei permanentem Zufluß von Substrat (Glukose) und Angebot von ADP und AMP wird auch die Glykolyse aktiviert, denn die Adenylate sind potente Aktivatoren der PFK (Mansour 1963, Ramaiah et al. 1964, Lowry a. Passonneau 1966). Unter solchen Bedingungen findet demnach in intakten Zellen glatter Muskulatur eine gleichzeitige Aktivierung der Glykolyse und der Mitochondrien statt, die zur Produktion von ATP führt. Die Bildung von ATP (Abb. 9.a, Tab. 20a) verläuft aber nicht über eine entsprechende Abnahme von ADP (Abb. 9.b, Tab. 21a) oder AMP (Abb. 9.c, Tab. 22a). Um eine Erklärung zu finden, aus welchen Quellen ADP für den ATP-Aufbau gebildet wird, soll zunächst das Verhalten von Glykolyse und Mitochondrien zum Zeitpunkt der höchsten ATP-Konzentration diskutiert werden.

Hat die ATP-Konzentration ihren Scheitelpunkt erreicht, dann ist der ATP/ADP-

Quotient am größten (Abb. 10.a, Tabelle 25a). Die Folge ist eine Hemmung der PFK (Mansour 1963, Chance et al. 1965a). Die Tätigkeiten der Glykolyse (G-6-P, Abb. 12.a) und des Citratzyklus (Malat, Abb. 15.a) nehmen gleichzeitig ab. Eine steigende ATP-Konzentration bewirkt eine Dissoziation des Actin-Myosin-Komplexes im quergestreiften Muskel (Lymn a. Taylor 1971). Der Muskel erschlafft (s. A.3.). Das erhöhte Angebot von ATP bewirkt außerdem eine Stimulierung der $(Na^+ + K^+)$-ATPase, besonders in Gegenwart niedriger intracellulärer K^+-Ionenkonzentrationen (Post et al. 1965, Limas a. Cohn 1974, Post et al. 1972).Siegel et al. 1969).

Mit dem aktiven Na^+-Auswärtstransport ist nicht nur ein aktiver K^+-Einwärtstransport gekoppelt, sondern gleichzeitig ein Ca^{++}-Einstrom, wie Baker et al. 1969 am Riesenaxon des Tintenfisches nachweisen konnten. Am glatten Muskel wurde gezeigt, daß Na^+- und Ca^{++}-Einstrom miteinander konkurrieren (Bohr et al. 1969). Der Ca^{++}-Einstrom wurde dann groß, wenn der passive Na^+-Influx minimal wurde und umgekehrt. Vermutlich ist ersteres der Fall, wenn Na^+-Ionen aktiv nach außen transportiert werden. Aktiver Ca^{++}-Auswärtstransport fände am leichtesten statt, wenn die Permeabilität der Zelle für den passiven Na^+-Einstrom hohe Werte erreicht. Somit erscheint neben der ATP-verbrauchenden Na^+-K^+-Pumpe ein Na^+-Ca^{++}-Austauschsystem. Werden Na^+-Ionen durch die Tätigkeit der $(Na^+ + K^+)$-ATPase aktiv nach außen transportiert, so gelangen K^+- und Ca^{++}-Ionen in die Zelle. Ein Anstieg der Ca^{++}-Ionenkonzentration ist nun entscheidend für die elektromechanische Kopplung. Der glatte Muskel entwikkelt mechanische Spannung (Somlyo 1972). Diese Kraftentwicklung geschieht über den energieverbrauchenden Prozeß der Actin-Myosin-ATPase-Aktivität (Rüegg 1971).

Soeben wurden zwei Prozesse geschildert, die bei der Entstehung des Muskeltonus in einem Kausalzusammenhang stehen. Ob diese Vorgänge gleichzeitig oder mit Latenz ablaufen, kann hier nicht beantwortet werden. Beide Prozesse verbrauchen jedoch ATP. Die $(Na^+ + K^+)$-ATPase wird am geringsten aktiviert, wenn die intrazelluläre K^+-Ionenkonzentration hoch ist. Dies ist vor einem möglichen Beginn ATP-verbrauchender Prozesse der Fall. Der Ionentransport ist jetzt minimal.

Aus diesem Exkurs folgt eine Kopplung zwischen Energiestoffwechsel sowie

elektrischen und mechanischen Erscheinungen an der glatten Muskulatur. Dies läßt die beobachtete Abnahme von ATP erwarten. Es soll jetzt auf die schon erwähnte Tatsache hingedeutet werden, daß der ATP-Verbrauch (Abb. 9.a, Tabelle 20a) nicht von einem gleich großen Anstieg von ADP und AMP begleitet ist, genausowenig wie der Anstieg des ATP von einer Abnahme des ADP (Abb. 9.b, Tab. 21a) und AMP (Abb. 9.c, Tab. 22a). Es erhebt sich die Frage, aus welchen Quellen der ATP-Aufbau gespeist wird und in welche Richtung der ATP-Abbau erfolgt. Im folgenden wird eine Deutungsmöglichkeit diskutiert, die nicht durch Experimente im Rahmen dieser Arbeit belegt ist.

Die Mittelwertskurve der Adenin-Nukleotide (Abb. 9.d, Tab. 23a), zeigt, daß der Abbau von ATP über die Stufe der Adenylate, also über das AMP hinaus, erfolgen muß. Auch der Aufbau von ATP muß über ein hochenergetisches Vorprodukt, das vor dem AMP liegt, ablaufen. Wie schon erwähnt (Abschnitt C.1.1.1), erfolgt der Aufbau von AMP höchstwahrscheinlich über Phosphoribosylpyrophosphat, das dann Adenin oder Hypoxanthin phosphoryliert (Goldthwait 1957, Flaks et al. 1957, Kornberg et al. 1955)

$$PRPP + \text{Adenin o. Hypoxanthin} \rightleftharpoons AMP \text{ o. } IMP + PP$$

Unter dem wichtigen Einfluß der Myokinasereaktion entsteht im Cytosol und in den Mitochondrien (Ozawa 1966) ADP und hieraus in der Glykolyse und den Mitochondrien in Gegenwart von P_i das ATP.

Während ATP verbraucht wird, müßte hypothetisch PRPP über die Phosphoribosylpyrophosphat-Synthase aus Ribose-5-Phosphat und ATP entstehen. Dann würde sich dem Verbrauch von ATP durch die Actin-Myosin-ATPase und $(Na^+ + K^+)$-ATPase noch der Verbrauch von ATP in der PRPP-Synthetase-Reaktion hinzugesellen. In der Phase des ATP-Aufbaus aus PRPP nimmt dieses vorrätige, hochenergetische Produkt wieder ab. Es entsteht zunächst AMP.

Das Gleichgewicht der Myokinasereaktion ist im Falle der ATP-Produktion zugunsten der ATP-Bildung verschoben (Abb. 10.a, Tabelle 24a). Derselbe Befund

kann anhand der Creatinkinasereaktion erhoben werden (Abb. 10.c, Tabelle 26a). Der zeitliche Ablauf der Myokinase- als auch der Creatinkinasereaktion ist zum ATP-Kurvenverlauf (Abb. 9.a, Tabelle 20a) um 180^{o} phasenverschoben. Somit wird ATP über die Stufen AMP und ADP gebildet, ohne daß es zu einem Anstieg dieser Substanzen kommt. Die Creatinkinasereaktion läuft in dieser Phase stark in Richtung ADP-Produktion. Dieser Befund wird durch den starken Creatinphosphatanstieg (Abb. 11.a, Tabelle 28a) erhärtet. Er macht rund 75% des ATP-Anstieges aus. Hier wird also in der Zeit des ATP-Anstieges ein großer Vorrat an energiereichem Phosphat in Form von Creatinphosphat angehäuft. In der Phase des Energiebedarfs (ATP-Verbrauch) nimmt er wieder ab. Demnach schwingen Creatinphosphat und ATP in Phase (Abb. 9.a, Tabelle 20a).

Mit jeder Zunahme von CrP ist eine proportionale Abnahme von Creatin verknüpft. Die Phasenverschiebung zwischen CrP und Creatin beträgt demnach 180^{o} (Abb. 11.b, Tabelle 29a). Da sich beide Metabolite genau gegensinnig verhalten, ist die Summe von CrP und Cr konstant (Abb. 11.0, Tabelle 30). Das konträre Verhalten von Creatinphosphat und Creatin ist besonders deutlich aus dem CrP/Cr-Quotienten ersichtlich (Abb. 14.a, Tabelle 31a).

Der Abbau von AMP erfolgt zunächst über eine Nukleotidase zum Adenosin und P_i (Heppel 1955a,b). Adenosin und P_i können dann analog zu Inosin und Guanosin durch die Nukleosid-Phosphorylase (Kalckar 1947) zu Adenin und Ribose-1-Phosphat umgewandelt werden. Die freie Base kann dem erneuten Aufbau von AMP dienen, während das Ribose-1-Phosphat in der Glykolyse über den Pentosephosphatzyklus verstoffwechselt werden kann (Gerlach u. Lübben 1959). Beim Abbau von drei ATP-Molekülen bis zum Adenin und Ribose-1-Phosphat könnten aus den drei R-1-P-Molekülen zunächst zwei F-6-P und GAP-Molekül entstehen. Letztere ergeben in der Glykolyse in Gegenwart von ADP und 8 P_i acht ATP- und fünf Lactat-Moleküle (Sen a. Post 1964). Eine andere Deutung des oszillatorischen Lactatanstieges wäre die Kopplung an NADH-Schwingungen. Vergleicht man den ATP-Abfall (Abb. 9.a, Tab. 20a) mit dem Anstieg von Lactat in Abb. 13.b, Tab. 35a, so erkennt man einen äquimolaren Abfall von ATP und Anstieg von Lactat. Theoretisch wäre mehr Lactat zu erwarten. Das Defizit könnte dadurch bedingt sein, daß ein Teil an Lactat aus der Zelle diffundiert.

An dieser Stelle soll ein kurzer Vergleich zu einer Arbeit von Arese et al.

(1968) gezogen werden. Diese Autoren untersuchten den Kurzzeiteffekt von Jodacetat (10 mMol/l) nach 1 Minute am Verhalten der Metabolite des Froschherzens. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen stimmen mit den hier gefundenen überein. Allerdings bezogen Arese et al. (1968) die Veränderungen der Metabolite nur auf die vergiftende Wirkung von Jodacetat am GAPDH-Schritt. Einen aktivierenden Einfluß von Jodacetat bei kurzzeitiger Einwirkungsdauer untersuchten sie nicht.

An dieser Stelle soll noch einmal auf die wichtige und für manche Enzyme und Enzymsysteme entscheidende Rolle des Adenylatsystems bzw. des ATP/ADP-Quotienten bei der Regulation und Kontrolle aller hier erwähnten Systeme hingewiesen werden. Steigt der Quotient, dann wird die ATP-Bildung gehemmt (Abb. 10.b, Tab. 25a). Die Berechnung der Energiebeladung zeigt, daß sie im optimalen physiologischen Bereich liegt. In diesem Bereich findet eine starke Kontrolle der Enzymsysteme bei minimaler Änderung der Energiebeladung statt (Abb. 10.d, Tab. 27a). Jeder Anstieg der Energiebeladung hemmt die Enzymsysteme, die ATP regenerieren. Besonders betroffen ist die Phosphofructokinase. ATP-verbrauchende Sequenzen hingegen werden stimuliert, so z.B. die oben erwähnte Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Synthetase (Atkinson 1968, Atkinson a. Fall 1967).

2. Wechselbeziehungen der enzymatischen Systeme

Nach der Beschreibung des Metabolitverhaltens und der Diskussion über Reaktionsmöglichkeiten, die für den Auf- und Abbau des ATP in Frage kommen, soll auf die in Abschnitt A.2. gestellten Fragen eingegangen werden.

In Tracerexperimenten an glatter Gefäßmuskulatur stellten Siegel et al. (1971) unmittelbar nach Jodacetatapplikation (4 mMol/l) eine Steigerung des Na^+-Effluxes um 110% fest. Da der Na^+-Efflux nach diesen Autoren zu 80% aktiver Transport ist, bedeutet die 110%ige Steigerung des gesamten Na^+-Effluxes eine Verdopplung seines aktiven Anteils. Dieses Phänomen war etwa 5 Minuten lang zu beobachten. Das Verhalten der Metabolite in der Zeit des verdoppelten aktiven Na^+-Auswärtstransportes läßt gesteigerte Aktivitäten der Glykolyse und des Citratzyklus mit dem Ziel einer gesteigerten ATP-Produktion erkennen. Die gesteigerten Aktivitäten von Glykolyse und Mitochondrien bei gleichzeitiger ATP-Erzeugung laufen periodisch ab. Während der ersten 5 Minuten erkennt man fünf Schwingungen mit abnehmender Frequenz. Diese Oszillationen

ließen sich empirisch-mathematisch als Sinusschwingungen beschreiben (Abschnitt C.1.2.). Die periodische Produktion von ATP weist auf einen oder mehrere gleichzeitig stattfindende ATP-verbrauchende Prozesse hin. Diese Vorgänge wurden hauptsächlich als aktiver Membranprozeß und Erzeugung von Muskeltonus gedeutet (Abschnitt D.1.).

Wenn sich der aktive Transport nach Jodacetatapplikation verdoppelt und der ATP-Gehalt im Verlauf eines Oszillationszyklus - bezogen auf die niedrigste ATP-Konzentration - um 40% und CrP um 20% ansteigen, so erfolgt insgesamt ein 60%iger Anstieg und danach eine ebensolche Abnahme hochenergetischer Phosphate. Diese sinusoidalen Schwingungen können während des verdoppelten Na^+-Effluxes dreimal beobachtet werden. Im Erythrozyten und im quergestreiften Muskel werden drei Na^+-Ionen pro ATP-Molekül aktiv transportiert (Sen a. Post 1964, Dydynska a. Harris 1966). Ein 100%iger Anstieg des Na^+-Effluxes erfordert demnach einen zusätzlichen Verbrauch von 30% des ATP (≈ 1200 nMol/Schwingung). Demnach verbleiben noch 30% für die übrigen ATP-verbrauchenden Prozesse.

Wir fassen zusammen: Der transmembranale Ionentransport, der durch die (Na^++ K^+)-ATPase kontrolliert wird, läßt sich durch zunehmende ATP-Mengen steigern, etwas phasenverzögert wird ATP verbraucht. Dieser Vorgang ist sofort reproduzierbar, wenn ATP erneut aufgebaut wurde. Die Schnelligkeit, mit der ATP-Produktion und -Verbrauch ablaufen können, ist von der Frequenz der beiden um 180^o phasenverschobenen Prozesse abhängig. Nach drei Minuten zeigen sich die ersten Jodacetatvergiftungserscheinungen, weder Creatinphosphat (Abb. 11.a) noch Lactat (Abb. 13.b) führen weitere Schwingungen aus. Durch die Hemmung der Glykolyse kommt die oszillierende ATP-Produktion zum Erliegen.

Als mögliches Schrittmachersystem, dem die anderen enzymatischen Prozesse untergeordnet sind, stellt sich die Glykolyse mit dem allosterischen Enzym PFK dar. Dies läßt sich aus dem Befund folgern, daß die "untere" Glykolyse gegenüber der "oberen" um 80^o nachgeordnet ist, ebenso Citratzyklus, Fettstoffwechsel (ß-HOB) und ATP-Produktion. Außerdem hören bei Hemmung der GAPDH durch Jodacetat die Oszillationen aller Metabolite auf.

Das komplexe System der Oszillationen der hier beschriebenen Metabolite und der sie erzeugenden Enzymsysteme ist nicht durch die Funktion eines Schritt-

machers allein zu erklären. Aus einer Wertung der Meßergebnisse und der Literatur kann auf Rückkopplung aller an Energiebildung und -verbrauch beteiligten Systeme geschlossen werden. Als gemeinsames Bindeglied bei der Kontrolle der geschilderten Enzymtätigkeiten kann das Adenylatsystem angesehen werden. Ein Ausdruck dieses Systems ist der ATP/ADP-Quotient. Steigt ATP an, dann wird die ATP-Produktion über die PFK gehemmt (Mansour 1963) und der Verbrauch über die (Na^++K^+)-ATPase stimuliert (Limas a. Cohn 1974). Diese Kontrollfunktion sei hier in einem Regelkreis veranschaulicht (Abb. 1.5), der die Beziehungen der enzymatischen Systeme zueinander skizziert.

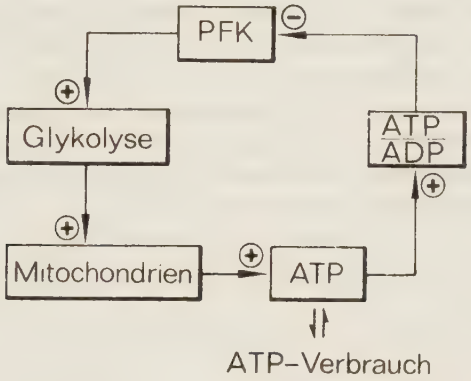

Abb. 1.5: Regelschema der ATP-Bildung.

3. Vergleich zwischen Kontroll- und Applikationsserien

In der bisherigen Diskussion wurde auf das Verhalten des glatten Muskels unmittelbar nach Jodacetatapplikation innerhalb der ersten drei Minuten eingegangen. Nur bis zu diesem Zeitpunkt hält die aktivierende Wirkung von Jodacetat an. Schon nach drei Minuten zeigen sich am Abfall von Lactat und Creatinphosphat erste Zeichen der Vergiftung. Bis zu drei Minuten stimuliert Jodacetat die besprochenen Enzymsysteme stark.

Vergleicht man diesen Teil der Applikationsserien mit den Kontrollserien, so sind die Schwingungsamplituden der Metabolite in beiden Serien bis auf

die besprochenen Ausnahmen (Abschnitt D.1.) identisch. Das gleiche gilt für die absoluten Spiegel der Metabolite. Vergleicht man die Serien 1 bis 3 untereinander, so stellt man analoges Verhalten fest (Tabelle 20-38). Zur Illustration wurden die Kurven aller Metabolite der drei Applikationsserien getrennt dargestellt (Abb. 9-15.1,2,3). Die Mittelwertskurve wurde in die Kontrollserien, beginnend beim Vierstundenwert , eingetragen (Abb. 2.0-8.0).

Der hauptsächliche Unterschied zwischen Kontroll- und Applikationsserien liegt in der Oszillationsfrequenz. Die Applikationsserien haben eine mindestens um zwei Zehnerpotenzen höhere Frequenz. Solche Unterschiede im Aktivitätsverhalten der Glykolyse haben schon Chance et al.(1964c) bei Abkühlungsversuchen festgestellt. In einer glatten Muskelzelle laufen also unter physiologischen Bedingungen langsame, periodische Schwingungen von Glykolyse, Citratzyklus, Fettstoffwechsel und damit auch der energiereichen Phosphate ab. Hierzu synchron erfolgen transmembranale Ionentransporte. Die Vorgänge im glatten Muskel unter Jodacetat sind daher nur ein Sonderfall seines physiologischen Verhaltens. Sie äußern sich in stark erhöhter Oszillationsfrequenz, bevor die Vergiftung eintritt.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Um das Verhalten von Glykolyse, Citratzyklus, Fettstoffwechsel und hochenergetischen Phosphaten in glatter Gefäßmuskulatur zu studieren, wurden an der Arteria carotis des Hundes folgende Metabolite gemessen und daraus verschiedene Größen berechnet. Aus der "oberen" Glykolyse wurden G-6-P und α-GP, aus der "unteren" Glykolyse Pyruvat und Lactat, aus dem Fettstoffwechsel ß-Hydroxybutyrat und aus dem Citratzyklus Malat bestimmt. Als Produkt von Glykolyse und Atmungskette wurden ATP und seine Dephosphorylierungsprodukte ADP und AMP gemessen, ferner die Konzentrationen des Creatinphosphats und Creatins. Diese stehen über die Creatinkinasereaktion mit ATP und ADP im Gleichgewicht. Außerdem wurden Myokinase-, Creatinkinase-, ATP/ADP-, CrP/Cr-Quotient sowie die Energiebeladung berechnet. Weiterhin wurde die Summe der A-Nukleotide und die von Creatinphosphat plus Creatin gebildet.

2. Die untersuchten Metabolite zeigen periodische Schwankungen ihrer Konzentrationen sowie charakteristische Phasenverschiebungen. Die Aktivität der "oberen" Glykolyse geht gegenüber der "unteren" Glykolyse, dem Citratzyklus, dem Fettstoffwechsel und der ATP-Produktion um 80^{o} voran.

3. Die ATP-bildenden und -verbrauchenden Systeme sind durch Rückkopplung untereinander verschaltet.

4. Oszillationen von Glykolyse, Citratzyklus, Fettstoffwechsel und hochenergetischen Phosphaten laufen unter dem aktivierenden Einfluß von Jodacetat während ungefähr fünf Minuten ab. In dieser Zeit sind Oszillationen mit abnehmender Frequenz zu beobachten. Nach etwa drei Minuten zeigen sich erste Vergiftungserscheinungen.

5. Die Veränderungen des ATP-Gehaltes sind nicht von äquimolaren des ADP und AMP begleitet. Ein möglicher, über ein energiereiches Zwischenprodukt erfolgender, periodischer Auf- und Abbau von A-Nukleotidvorstufen wird diskutiert.

6. Ein Vergleich zwischen Applikations- und Kontrollserien ergibt, daß offenbar die ruhende Gefäßmuskulatur ohne Jodacetatbeeinflussung Schwingungen

gleicher Amplitude und Amplitudenmittellage ausführt. Allerdings ist die Oszillationsfrequenz unter Jodacetat um zwei Zehnerpotenzen höher. Die Schwingungen unter Jodacetat sind nur ein Sonderfall des physiologischen Verhaltens glatter Muskulatur.

7. Bei einem Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit den Befunden von Siegel et al. (1971) ergibt sich eine zeitliche Korrelation von gesteigertem, aktivem Na^+-Auswärtstransport unter Jodacetat und Bereitstellung von Energie in Form von ATP und Creatinphosphat. Die Bereitstellung von Stoffwechselenergie führt zur Stimulation des aktiven transmembranalen Ionentransportes und zum Verbrauch von ATP. Angebot und Verbrauch von ATP erfolgen während des gesteigerten Na^+-Effluxes in Form schneller Oszillationen. Diese Oszillationen sind das Produkt von Rückkopplungen zwischen allen beteiligten Systemen.

F. TABELLEN

Tabelle 1 Energiebeladung der Kontrollwerte

$$\frac{(ATP) + 0{,}5\ (ADP)}{(ATP)+(ADP)+(AMP)}$$

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		0,77	0,78	0,78	0,80	0,78	0,78	0,78
2	0,75	0,77	0,73	0,77	0,77	0,80	0,74	0,80
M	0,75	0,77	0,76	0,78	0,79	0,79	0,76	0,79
±SD		0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01

Tabelle 2 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von ATP [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		2363	2031	2310	2591	2276	1842	2201
		2363	2154	2260	2538	2319	1823	2288
		2	2	2	2	2	2	2
		2363	2093	2285	2564	2298	1833	2245
2	1840	1723	1354	1938	1818	2502	1656	2567
	1803	1779	1389	1855	1900	2449	1836	2458
	2	2	2	2	2	2	2	2
	1822	1751	1372	1897	1859	2475	1746	2513
M	1822	2057	1732	2090	2212	2387	1789	2379
±SD	18,5	306	361	194	353	89	43,3	134

Tabelle 3 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von

ADP [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		782	768	679	768	801	686	866
		744	679	768	826	653	790	
		2	2	2	2	2	2	
		763	756	679	768	814	670	828
2	614	500	452	627	617	844	616	800
	625	502	441	611	642	782	637	753
	2	2	2	2	2	2	2	2
	620	574	447	619	630	813	627	777
x	619,5	668,7	601,5	649,0	698,1	813,3	648,0	802,5
±sd	7,5	134,9	154,8	30,0	69,5	0,25	21,5	25,8

Tabelle 4 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von

AMP [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		440	312	385	366	354	288	340
		415	290	390	374	346	282	340
		2	2	2	2	2	2	2
		428	301	388	370	350	285	340
2	413	294	373	337	356	306	389	352
	396	317	368	335	346	335	402	329
	2	2	2	2	2	2	2	2
	404	306	371	336	351	321	396	341
x	409	367	350	362	361	335	340	340
±sd	13,0	61,5	34,8	25,5	9,5	14,8	55,5	0,25

Tabelle 5 Metabolitspiegel der Kontrollwerte der Summe der Adenosinphosphate [nM/g Trockengewicht]

[t/min] Serie	o' 1.	15' 2.	3o' 3.	45' 4.	6o' 5.	12o' 6.	24o' 7.	48o' 8.
1		3586	3149	3352	3703	3461	2787	3413
2	2840	2631	2189	2852	2840	3609	2768	3630
M	2840	3105	2669	3102	3271	3535	2778	3521
±SD		475	481	250	432	74	9,5	109

Tabelle 6 Kontrollwerte des Quotienten $\frac{ATP}{ADP}$

[t/min] Serie	o' 1.	15' 2.	3o' 3.	45' 4.	6o' 5.	12o' 6.	24o' 7.	48o' 8.
1		3,0	2,8	3,4	3,3	2,8	2,7	2,7
2	2,9	3,1	3,1	3,1	3,0	3,0	2,8	3,2
M	2,9	3,05	2,95	3,25	3,15	2,9	2,75	2,95
±SD		0,05	0,15	0,15	0,15	0,1	0,05	0,25

Tabelle 7 Kontrollwerte des Myokinasequotienten

$\frac{ATP \times AMP}{ADP \times ADP}$

[t/min] Serie	o' 1.	15' 2.	3o' 3.	45' 4.	6o' 5.	12o' 6.	24o' 7.	48o' 8.
1		1,6	1,1	1,9	1,6	1,2	1,2	1,1
2	1,9	1,6	2,5	1,7	1,6	1,2	1,8	1,4
M	1,9	1,6	1,8	1,8	1,6	1,2	1,5	1,25
±SD		0,0	0,7	0,1	0,0	0,0	0,3	0,15

Tabelle 8 Kontrollwerte des Creatinkinasequotienten

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		1,15	1,20	1,60	0,[illegible]		0,[illegible]	0,62
[illegible]	1,[illegible]4	1,[illegible]5	1,[illegible]0	1,[illegible]5	0,[illegible]3		1,23	
[illegible]	1,24	1,20	1,30	1,31	0,41		1,08	0,62
± [illegible]		0,05	0,03	0,05	0,06		0,15	

Tabelle 9 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von [illegible]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
			2591	2443	3080	2746	2785	2879
			2677	2377	3239	2803	2643	2882
			2	2	2	2	2	2
		2907	2734	2410	3160	2775	2714	2890
2	[illegible]	[illegible]	2760	2624	2750	2749	2414	2800
	2[illegible]	2670	2663	2691	2923	2663	2563	2700
	2	2	2	2	2	2	2	2
	2[illegible]	2805	2864	2760	2939	2703	2491	2753
[illegible]	2[illegible]	2856	2799	2585	3049	273[illegible]	2[illegible]	[illegible]
± [illegible]		51,3	65	175	110	35,[illegible]	[illegible]	[illegible]

Tabelle 10 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von Creatin [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	o'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		1110	1242	1188	936		920	870
2	1133	1145	1239	1402	831		1098	
M	1133	1128	1241	1295	884		1009	870
±SD		17,5	1,5	107	52,5		89	

Tabelle 11 Metabolitspiegel der Kontrollwerte aus CrP+Creatin [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	o'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		4017	3976	3593	4096		3634	3760
2	3826	3950	4103	4162	3770		3589	
M	3826	3983	4040	3880	3933		3612	3760
±SD		33,8	64	282	163		22,5	

Tabelle 12 Kontrollwerte des Quotienten $\frac{CrP}{Cr}$

[t/min]	o'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		2,62	2,20	2,03	3,36		2,95	3,32
2	2,38	2,52	2,31	1,97	3,54		2,27	
M	2,38	2,57	2,26	2,00	3,46		2,61	3,32
±SD		0,05	0,05	0,03	0,08		0,34	

Tabelle 13 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von Glucose-6-phosphat [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		113	68	83	79	71	81	72
		113	68	83	66	71	81	58
		2	2	2	2	2	2	2
		113	68	83	73	71	81	65
2	113	114	88	70	132	120	73	67
	139	114	123	56	66	107	71	67
	2	2	2	2	2	2	2	2
	126	114	106	63	99	114	82	67
M	125,5	113,5	86,8	73	85,8	92,3	81,5	66
±SD	12,5	0,5	18,8	10	13,3	21,3	0,5	1

Tabelle 14 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von α-Glycerophosphat [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		20	54	47	76	141	286	359
		28	54	57	63	129	230	300
		2	2	2	2	2	2	2
		24	54	52	70	135	258	329
2	208	124	55	44	78	191	455	375
	210	124	56	41	88	178	356	362
	2	2	2	2	2	2	2	2
	209	124	46	43	83	185	455	368
M	209	74	50	47,3	76,3	160	319	367
±SD	1	50	4,3	4,8	6,8	25	36	2

Tabelle 15 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von Pyruvat [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	o'	15'	3o'	45'	6o'	12o'	24o'	48o'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		384	315	388	336	314	284	454
		376	3o5	374	333	317	291	383
		2	2	2	2	2	2	2
		38o	31o	381	335	316	288	419
2	514	268	341	3o1	32o	267	239	231
M	514	324	325	341	327	291	263	325
±SD		56	15,3	4o	7,3	24,3	24,3	93,8

Tabelle 16 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von Lactat [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	o'	15'	3o'	45'	6o'	12o'	24o'	48o'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		3156	28o2	362o	2324	3944	2933	
		2775	29o3	33oo	2795	4o6o	414o	
		2868	2565	396o	26oo			
		3	3	3	3	2	2	
		2933	2757	3627	2573	4oo2	3536	42o5
2	8432	2876	3393	21o5	31o7	1723	3852	2893
	3100	2538	3654	24o1	2126	2915	3161	2926
	2	2	2	2	2	2	2	2
	5766	27o1	3524	2253	2617	2319	3502	291o
M	5766	2817	314o	294o	2595	316o	3521	3537
±SD	2666	116	384	687	21,9	842	14,9	648

Tabelle 17 Kontrollwerte des Quotienten Lactat / Pyruvat

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		7,7	7,1	7,1	7,7	12,5	12,5	10,0
2	11,2	10,1	10,3	7,5	8,2	8,7	14,7	12,6
M	11,2	8,9	9,6	8,5	8,0	10,7	13,5	11,3
±SD		1,2	0,7	1,0	0,25	2,0	1,2	1,3

Tabelle 18 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von Malat [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	0'	15'	30'	45'	60'	120'	240'	480'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		349	70	69	51	38		27
		330	70	78	53	36		42
		2	2	2	2	2		2
		340	70	74	52	37	29	35
2	102	65	115	88	59	40	68	27
	89	65	111	61	75	42	32	21
	2	2	2	2	2	2	2	2
	96	65	113	75	67	41	50	24
M	95,5	202	91,5	74	59,5	39	39,5	29,3
±SD	6,5	137	21,5	0,5	7,5	2	10,5	5,3

Tabelle 19 Metabolitspiegel der Kontrollwerte von ß-Hydroxybuttersäure [nM/g Trockengewicht]

[t/min]	o'	15'	3o'	45'	6o'	12o'	24o'	48o'
Serie	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1		22	16	25,2	11,1	14,4	1o,o	14,6
2	17,3		21,7	5		9,2	12,6	9,3
M	17,3	22	18,9	15,1	11,1	11,7	11,3	12
±sD			2,9	1o,1		2,5	1,3	2,7

Tabelle 20

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

ATP [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	1365 1334 1349,5	2462 2520 2491,0	1443 1630 1536,5	877,0	1563,5 ± 338,9	
1.					1636.0 ± 210,8	<0,05 2/5
10"	1904 1890		1567 1705			
2.	1897,0		1636,0		1766,5 ±130,5	<0,025 8/10
20"	1950 1940	2755 2642	1520 1594			8/12
3.	1945,0	2698,5	1557,0		2066,8 ±335,1	<0,005 5/10
30"	2216 2224	2728 2764	1133 1206			
4.	2220,0	2746,0	1169,5	1295,0	1857,6 ±377,6	
40"	2025 2030	2199 2259	2026 2096			
5.	2027,5	2229,0	2061,0		2105,8 ± 62,3	
50"	2220 2224	2456 2474	1451 1540			
6.	2222,0	2465,0	1495,5		2060,8 ±291,2	
60"	1509 1467	2828 2790	1322 1290			
7.	1488,0	2809,0	1306,0	806,0	1602,3 ±427,3	
90"	2476 2396	2322 2335	1775 1775			
8.	2436,0	2328,5	1775,0		2179,8 ±204,8	
2'	833 833	2670 2659	1493 1455			
9.	833,0	2664,5	1474,0	1470,0	1610,4 ±382,3	
3'	1529 1460		1293 1353			
10.	1494,5		1323,0	942,0	1253,2 ±163,3	
5'	1866 1852	2585 2524	679 695			
11.	1859,0	2554,5	687,0	1130,0	1557,6 ±410,8	
10'	1096 1146					
12.	1121,0			870,0	995,5 ±125,5	
20'			367 288			
13.			327,5		327,5 ± 39,5	

Tabelle 21

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

ADP [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	464 449 456,5	862 680 771,0	580 488 534,0	550 562 556,0	579,4 ± 67,3	< 0,1 4/10
1.					602,0 ± 45,0	
10" 2.	681 701 691,0		561 616 588,5		639,8 ± 51,3	
20" 3.	719 756 737,5	772 751 761,5	549 533 541,0		680,0 ± 69,8	
30" 4.	679 758 718,5	783 693 738,0	603 620 611,5	685 656 670,5	684,6 ± 28,2	
40" 5.	626 657 641,5	696 651 673,5	629 510 569,5		628,2 ± 30,8	
50" 6.	711 741 726,0	776 691 733,5	570 481 525,5		661,7 ± 68,1	
60" 7.	540 570 555,0	826 774 800,0	493 466 479,5	444 460 452,0	571,6 ± 79,2	
90" 8.	745 673 709,0	613 672 642,5	563 545 554,0		635,2 ± 44,9	
2' 9.	427 409 418,0	828 797 812,5	560 523 541,5	741 733 737,0	627,3 ± 90,1	
3' 10.	593 698 645,5		539 491 515,0	639 609 624,0	594,8 ± 40,4	
5' 11.	654 703 678,5	811 754 782,5	525 452 488,5	616 592 604,0	638,4 ± 61,9	
10' 12.	650 706 678,0			1055 957 1006,0	842,0 ± 164,0	
20' 13.			445 408 426,5		426,5 ± 18,5	

Tabelle 22

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

A M P [nMol / % Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	72 103 87,5	37 97 97,0	83 116 99,5	96,8	95,2 ± 2,6	<0,1 4/5 4/10
1.						
10"	113 107 110,0		80 92 86,0		98,0 ± 12,0	<0,025 1/12 4/12
2.						
20"	99 79 89,0	93 93 93,0	95,0		92,3 ± 1,8	
3.						
30"	99 96 97,5	90,0	78 87 82,5	90,0	90,0 ± 3,0	
4.						
40"	92 116 104,0	96 84 90,0	127 127 127,0		107,0 ± 10,8	
5.						
50"	142 170 156,0	96 114 105,0	89 78 83,5		114,8 ± 21,5	
6.						
60"	102 114 108,0	117 107 112,0	90 67 78,5	89,6	97,0 ± 7,8	
7.						
90"	130 138 134,0	88 82 85,0	89 67 78,0		99,0 ± 17,6	
8.						
2'	145 127 136,0	73 66 69,5	108 122 115,0	96,0	104,1 ± 14,1	
9.						
3'	149 142 145,5		91 86 88,5	110,3	114,8 ± 16,6	
10.						
5'	181 181 181,0	90 75 82,5	69 89 79,0	87,5	107,5 ± 24,5	
11.						
10'	194 218 206,0			135,6	170,8 ± 35,2	
12.						
20'			167 130 148,5		148,5 ± 18,5	
13.						

Tabelle 23

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$\Sigma A \left[\frac{nMol}{g\ Trockengewicht}\right]$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	1893,5	3359	2170	1529,8	2238,0 ± 396,0	<0,1 2/5
1.					2418,0 ± 275.0	
10"	2698		2310,5		2504,0 ± 194,0	<0,05 8/12
2.						
20"	2771,5	3553	2193		2839,0 ± 394,0	<0,025 8/10
3.						
30"	3036	3574	1863,5	2055,5	2632,0 ± 406,0	
4.						
40"	2773	2992,5	2757,5		2841,0 ± 76,0	
5.						
50"	3104	3303,5	2104,5		2837,0 ± 371,0	
6.						
60"	2151	3721	1864	1347,6	2271,0 ± 511,0	
7.						
90"	3279	3056	2407		2914,0 ± 262,0	
8.						
2'	1387	3546,5	2130,5	2303	2342,0 ± 448,0	
9.						
3'	2285,5		1926,5	1676,3	1963,0 ± 177,0	
10.						
5'	2718,5	3419,5	1254,5	1821,5	2304,0 ± 479,0	
11.						
10'	2005			2011,6	2008,0 ± 3,3	
12.						
20'			902,5		902,5 ±	
13.						

Tabelle 24

Quotient der Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$$\frac{ATP \cdot AMP}{ADP \cdot ADP}$$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	0,57	0,41	0,54	0,27	0,45 ± 0,07	<0,1 4/7
1.						
10" 2.	0,44		0,41		0,43 ± 0,01	<0,0 4/5 4/6
20" 3.	0,32	0,43	0,51		0,42 ± 0,06	4/8
30" 4.	0,42	0,45	0,26	0,26	0,35 ± 0,05	
40" 5.	0,51	0,44	0,81		0,59 ± 0,11	
50" 6.	0,66	0,48	0,45		0,53 ± 0,07	
60" 7.	0,52	0,49	0,45	0,35	0,45 ± 0,04	
90" 8.	0,65	0,48	0,45		0,53 ± 0,06	
2' 9.	0,65	0,28	0,58	0,26	0,44 ± 0,10	
3' 10.	0,52		0,44	0,27	0,41 ± 0,07	
5' 11.	0,73	0,34	0,23	0,27	0,39 ± 0,11	
10' 12.	0,50			0,12	0,31 ± 0,19	
20' 13.			0,27		0,27	

Tabelle 25

Quotient der Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$\frac{ATP}{ADP}$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	2,96	3,23	2,88	1,58	2,66 ± 0,37	<0,1
1.					2,69 ± 0,23	0/5 2/6 6/8
10"	2,75		2,78		2,77 ± 0,01	5/7 7/8
2.						11/12
20"	2,64	3,54	2,88		3,02 ± 0,27	
3.						
30"	3,10	3,72	1,91	1,93	2,67 ± 0,45	<0,05
4.						8/9
40"	3,16	3,31	3,62		3,36 ± 0,14	8/11
5.						
50"	3,06	3,36	2,85		3,09 ± 0,15	<0,025
6.						2/5
60"	2,68	3,51	2,72	1,78	2,67 ± 0,35	<0,01
7.						8/10
90"	3,44	3,62	3,20		3,42 ± 0,12	
8.						
2'	1,99	3,28	2,72	1,99	2,50 ± 0,31	
9.						
3'	2,32		2,57	1,51	2,13 ± 0,32	
10.						
5'	2,74	3,26	1,41	1,87	2,32 ± 0,42	
11.						
10'	1,65			0,86	1,26 ± 0,40	
12.						
20'			0,77		0,77	
13.						

Tabelle 26

Quotient der Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$$\frac{Cr \cdot ATP}{CrP \cdot ADP}$$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	1,54	1,69	1,12	2,03	1,61 ± 0,20	<0,1 2/8
1.					1,43 ± 0,17	3/9 7/9
10" 2.	0,85		0,68		0,77 ± 0,08	7/10 <0,05
20" 3.	1,51	1,47	0,71		1.23 ± 0,26	1/2 1/9
30" 4.	1,50	1,78	2,13	1,67	1,77 ± 0,13	2/9 5/4
40" 5.	1,03	2,56	0,68		1,70 ± 0,55	<0,005 2/4
50" 6.	1,46	1,68	1,77		1,64 ± 0,09	2/7 2/9
60" 7.	1,35	1,74	1,90	1,75	1,69 ± 0,12	
90" 8.	1,16	2,74	1,72		1,87 ± 0,46	
2' 9.	1,27	2,06	3,91	3,01	2,56 ± 0,57	
3' 10.	1,99		3,07	2,11	3,06 ± 1,01	
5' 11.	2,56	3,76	10,47	3,10	4,98 ± 1,06	
10' 12.	3,11			5,23	4,17 ± 1,06	
20' 13.			14,28		14,28	

Tabelle 27

Energiebeladung unter Jodacetat-Applikation

$$\frac{(ATP) + o,5\ (ADP)}{(ATP)+(ADP)+(AMP)}$$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	o,83	o,86	o,83	o,76	o,82 ± o,02	<o,1
1.					o,co ± o,02	1/3
1o"	o,84		o,84		o,84 ± o,oo	1/6
2.						2/5
2o"	o,83	o,87	o,83		o,84 ± o,01	5/7
3.						5/9
3o"	o,85	o,87	o,79	o,79	o,83 ± o,02	7/8
4.						8/9
4o"	o,85	o,86	o,85		o,85 ± o,oc	<o,o5
5.						1/5
5o"	o,83	o,86	o,84		o,84 ± o,01	1/8
6.						2/1o
6o"	o,82	o,86	o,83	o,77	o,82 ± o,02	6/1o
7.						<o,o25
9o"	o,85	o,87	o,85		o,86 ± o,01	8/1o
8.						
2'	o,75	o,87	o,82	o,8o	o,81 ± o,02	
9.						
3'	o,8o		o,82	o,75	o,79 ± o,02	
1o.						
5'	o,81	o,86	o,74	o,79	o,8o ± o,02	
11.						
1o'	o,73			o,68	o,71 ± o,02	
12.						
2o'			o,6o		o,6o	
13.						

Tabelle 28

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

C r P [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	2743 2779 2761,o	2991 2980 2985,5	1665 1610 1607,5	1262,o	2153,9 ± 423,8	
1.					2003,9 ± 285,6	
1o"	3290 3287		1806 1684			
2.	3288,5		1745,o		2516,8 ± 771,7	
2o"	2891 2973	2990 2941	1660 1743			
3.	2932,o	2965,5	1701,5		2533,o ± 415,9	
3o"	3243 3297	3130 2973	1059 916			
4.	327o,o	3051,5	987,5	1765,o	2268,5 ± 540,8	
4o"	2780 2772	2388 2310	2330 2158			
5.	2776,o	2349,o	2244,o		2456,3 ± 162,7	
5o"	2944 2914	3037 2741	1296 1242			
6.	2929,o	2889,o	1269,o		2362,3 ± 546,8	
6o"	2736 2736	3110 2876	1322 1290			
7.	2736,o	2993,o	1306,o	1480,o	2128,8 ± 429,5	
9o"	3047 2851	2322 2089	1623 1748			
8.	2949,o	2205,5	1685,5		2280,o ± 366,6	
2'	2782 2530	2496 2496	933 900			
9.	2656,o	2496,o	916,5	1488,o	1889,1 ± 414,7	
3'	1867 1842		733 823			
1o.	1854,5		778,o	1322,o	1318,2 ± 310,8	
5'	1895 1866	2190 1903	220 201			
11.	1880,5	2046,5	210,5	1201,o	1334,6 ± 417,o	
1o'	1234 1294					
12.	1264,o			484,o	874,o ± 390,o	
2o'			107 121			
13.			114,o		114,o ± 7,o	

Tabelle 29

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

Creatin $\left[\frac{\text{nMol}}{\text{g Trockengewicht}}\right]$

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"		1480 1645				
	1442,0	1562,5	634,0	1672,0	1327,6 ± 235,9	<0,1 1/2 7/9
1.					1041,0 ± 169,0	8/9
10"						<0,05
2.	1015,0		427,0		721,0 ± 294,0	2/7 8/11
20"		1026 1438				<0,025 2/4
3.	1683,0	1232,0	421,0		1112,0 ± 369,2	
30"		1458 1458				
4.	1585,0	1458,0	1102,0	1530,0	1418,8 ± 108,7	
40"		1830 1830				
5.	1610,0	1830,0	419,0		1286,3 ± 438,3	
50"		1445 1445				
6.	1394,0	1445,0	788,0		1209,0 ± 211,0	
60 "		1572 1396				
7.	1380,0	1484,0	909,0	1455,0	1307,0 ± 134,5	
90"		1666 1666				
8.	994,0	1666,0	907,0		1189,0 ± 239,8	
2'			956 1676			
9.	1697,0	1571,0	1316,0	2250,0	1708,0 ± 197,1	
3'						
10.	1674,0		1534,0	1849,0	1685,7 ± 91,1	
5'		2552 2189				
11.	1757,0	2370,5	1567,0	1988,0	1920,6 ± 172,9	
10'						
12.	2381,0			2925,0	2653,0 ± 272,0	
20'						
13.			2120,0		2120,0	

Tabelle 30

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$$\frac{\Sigma Crp+Cr}{\left[\frac{nMol}{g\ Trockengewicht}\right]}$$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	4203	4548	2241,5	2934	3481,6 ± 539,7	
1.					3525,0 ± 342,0	
10" 2.	4393,5		2172		3237,8 ± 1065,8	
20" 3.	4615	4197,5	2122,5		3645,0 ± 770,8	
30" 4.	4855	4509,5	2089,5	3295	3687,3 ± 628,9	
40" 5.	4386	4179	2663		3742,7 ± 543,1	
50" 6.	4323	4334	2057		3571,3 ± 757,2	
60" 7.	4116	4477	2215	2935	3435,8 ± 523,4	
90" 8.	3943	3871,5	2592,5		3469,0 ± 438,7	
2' 9.	4353	4067	2232,5	3738	3597,6 ± 472,1	
3' 10.	3528,5		2312	3171	3003,8 ± 361,0	
5' 11.	3637,5	4417	1777,5	3189	3255,3 ± 554,1	
10' 12.	3645			3409	3527,0 ± 118,0	
20' 13.			2234		2234	

Tabelle 31

Quotient der Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

$\frac{CrP}{Cr}$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	1,91	1,91	2,54	0,75	1,78 ± 0,37	<0,1 3/4
1.					2,06 ± 0,31	3/7
10" 2.	3,24		4,09		3,67 ± 0,42	<0,05 2/8
20" 3.	1,74	2,41	4,04		2,73 ± 0,68	<0,025 0/2
30" 4.	2,06	2,09	0,9	1,15	1,55 ± 0,31	<0,01 2/4
40" 5.	1,72	1,28	5,36		2,79 ± 1,29	<0,005 2/6
50" 6.	2,1	2,0	1,61		1,9 ± 0,15	
60" 7.	1,98	2,02	1,44	1,02	1,62 ± 0,24	
90" 8.	2,97	1,32	1,86		2,05 ± 0,49	
2' 9.	1,57	1,59	0,7	0,7	1,14 ± 0,25	
3' 10.	1,11		0,51	0,71	0,78 ± 0,18	
5' 11.	1,07	0,86	0,13	0,6	0,67 ± 0,2	
10' 12.	0,53			0,17	0,35 ± 0,18	
20' 13.			0,05		0,05	

Tabelle 32

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

G - 6 -P [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M+SD	P
0"	134 170 152,0	110,0	78,0	73 71 72,0	103,0 ± 18,3	<0,1 4/9 6/9
1.					95,8 ± 12,5	7/9 9/10 10/11
10" 2.	120 110 115,0		81,0		98,0 ± 17,0	
20" 3.	102 89 95,5	113,0	85,0		97,8 ± 8,1	
30" 4.	102 93 97,5	111,0	72,0	73 75 74,0	88,6 ± 9,4	
40" 5.	108 100 104,0	96,0	102,0		100,7 ± 2,4	
50" 6.	88 75 81,5	107,0	80,0		89,5 ± 8,8	
60" 7.	63 99 81,0	124,0	76,0	73 70 71,5	88,1 ± 12,1	
90" 8.	99 91 95,0	118,0	95,0		102,7 ± 7,7	
2' 9.	109 100 104,5	128,0	91,00	121 123 122,0	111,4 ± 8,4	
3' 10.	95 98 96,5		94,0	99 99 99,0	96,5 ± 1,4	
5' 11.	164 158 161,0	219,0	92,0	117 122 119,5	147,9 ± 27,6	
10' 12.	244 226 235,0			259 258 258,5	246,8 ± 11,3	
20' 13.						

Tabelle 33

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

α-G P $\left[\frac{\text{nMol}}{\text{g Trockengewicht}}\right]$

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M+SD	P
0"	676 637 656,5	810 1024 917,0	617 838 727,5		767,0 + 77,8	<0,1 4/5 3/9
1.						<0,05 5/9
10" 2.	741 594 667,5		662 842 752,0		709,8 + 42,3	
20" 3.	646 667 656,5	711 779 745,0	780 756 768,0		723,2 + 34,0	
30" 4.	586 535 560,5	790 830 810,0	395 599 497,0		622,5 + 95,5	
40" 5.	776 813 794,5	684 729 706,5	908 921 914,5		805,2 + 60,3	
50" 6.	816 745 780,5	723 577 650,0	675 679 677,0		702,5 + 39,8	
60" 7.	753 696 724,5	746 822 784,0	502 502 502,0		670,2 + 85,8	
90" 8.	582 600 591,0	853 846 849,5	872 800 836,0		758,8 + 84,0	
2' 9.	585 606 595,5	712 611 661,5	735 650 692,5		649,8 + 28,6	
3' 10.	917 873 895,0		603 595 599,0		747,0 + 148,0	
5' 11.	633 999 816,0	671 693 682,0	309 243 276,0		591,3 + 162,3	
10' 12.	394 429 411,5				411,5 + 17,5	
20' 13.					>0	

Tabelle 34

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

Pyruvat [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	126 126 126,0		147 1o4 125,5		132,8 ± 7,o	
1.						
1o"	174 174		87 76			
2.	174,0		81,5		127,8 ± 46,3	
2o"	182 165		1o9 124			
3.	173,5	2oo,o	116,5		163,3 ± 24,6	
3o"	294 3o3		72 87			
4.	298,5	133,o	79,5		17o,3 ± 65,9	
4o"	124 143		136 11o			
5.	133,5	229,o	123,o		161,8 ± 33,7	
5o"	15o 136		12o 9o			
6.	143,o	147,o	1o5,o		131,7 ± 13,4	
6o"	96 123		1o8 1o8			
7.	1o9,5	163,o	1o8,o		126,8 ± 18,o	
9o"	19o 2o2		1o3 65			
8.	196,o	256,o	84,o		178,7 ± 5o,4	
2'	124 13o		88 89			
9.	127,o	247,o	38,5		154,2 ± 47,7	
3'	84 8o		95 78			
1o.	82,o		86,5		84,3 ± 2,3	
5'	66 81		68 63			
11.	73,5	233,o	65,5		124,o ± 54,5	
1o'	59 38					
12.	48,5				48,5 ± 1o,5	
2o'						
13.						

Tabelle 35

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

Lactat [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M+SD	P
0"	3483 3741 3589,5	2835 3726 3280,5	2085 2294 2189,5		3019,8 ± 424,6	
1.					3220,0 ± 263,0	
10"	2755 4676		1676 2640			
2.	3590 3673,7		2158,0		2915,9 ± 757,9	
20"	2970 2888	3232 4242	2375 3510			
3.	2929,0	3737,0	2942,5		3202,8 ± 267,0	
30"	2900 2830	2244 4918				
4.	2865,0	3581,0	1432,0		2626,0 ± 631,8	
40"	2574 2508	3900 4500	2158 1973			
5.	2541,5	4200,0	2065,5		2935,7 ± 646,9	
50"	2380 2550	2403 3026	2813 2522			
6.	2465,0	2714,5	2667,5		2615,7 ± 76,5	
60"	2625 2100	2494 3509	2352 1926			
7.	2362,5	3001,5	2139,0		2501,0 ± 258,4	
90"	2898 2484		894 2146			
8.	2691,0	2132,0	1520,0		2114,3 ± 338,2	
2'	2424 2651	2516 2245	1060 3533			
9.	2537,5	2380,5	2296,5		2404,8 ± 70,6	
3'	1820 1729		970 2284			
10.	1774,5		1627,0		1700,8 ± 73,8	
5'	1656 1584	1346 2441	676 772			
11.	1620,0	1893,5	724,0		1412,5 ± 353,2	
10'	588 809 1103					
12.	833,3				833,3 ± 149,2	
20'						
13.						

Tabelle 36

Quotient der Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

t	Lactat / Pyruvat I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	28,5	22,3	17,5		22,8 ± 3,2	<0,1
1.						2/7
10"	21,1		26,5			5/7
2.					23,8 ± 2,7	3/8
20"	16,9	18,7	25,3			5/8
3.					20,3 ± 2,6	6/8
30"	9,6	26,9	18,0			8/10
4.					18,2 ± 5,0	<0,05
40"	19,0	18,3	16,8			2/5
5.					18,0 ± 0,65	1/8
50"	17,2	18,5	25,4			2/8
6.					20,4 ± 2,5	7/8
60"	21,6	18,4	19,8			
7.					19,9 ± 0,9	
90"	13,7	8,3	18,1			
8.					13,4 ± 2,8	
2'	20,0	9,6	25,9			
9.					18,5 ± 4,8	
3'	21,8		18,8			
10.					20,2 ± 1,4	
5'	22,0	8,1	11,1			
11.					13,7 ± 4,2	
10'	17,2					
12.					17,2 ± 0,0	
20'						
13.						

Tabelle 37

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

Malat $\left[\frac{\text{nMol}}{\text{g Trockengewicht}}\right]$

t	I.Serie	II.Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"		29	17		23,0 ± 6,0	
1.					31,5 ± 6,9	
10" 2.						
20" 3.	50		17		33,5 ± 16,5	
30" 4.	68	47	16		43,7 ± 15,1	
40" 5.	37	21	21		26,3 ± 5,3	
50" 6.	48	39,5	17		34,8 ± 9,2	
60" 7.	24	34	18		25,3 ± 4,7	
90" 8.	39	30			34,5 ± 4,5	
2' 9.	30	27	21		26,0 ± 2,6	
3' 10.	40		12		26,0 ± 14,0	
5' 11.	40	27	12		26,3 ± 8,0	
10' 12.	15				15,0	
20' 13.						

Tabelle 38

Metabolit-Spiegel unter Jodacetat-Applikation

β -H O B [nMol / g Trockengewicht]

t	I.Serie	II. Serie	III.Serie	IV.Serie	M±SD	P
0"	13,4 8,9 11,2		5 10 7,5		8,8 ± 1,2	<0,1 3/4
1.					9,8 ± 1,0	<0,05 1/8
10" 2.	7,5 11,3 9,4		13,4 14,5 14,0		11,7 ± 2,3	
20" 3.	11,4	3,6	6,6 14,5 10,6		8,5 ± 2,5	
30" 4.	14,3	11,1	16,5 16,3 16,4		13,9 ± 1,5	
40" 5.	9,1 13,7 11,4	9,6	13,2 12,0 12,6		11,2 ± 0,9	
50" 6.	19,2	10,7	15,5 10,5 13,0		14,3 ± 2,5	
60" 7.	18,2	10,3 6,9 8,6	14,3 14,8 14,55		13,8 ± 2,8	
90" 8.	18,7	9,8 11,5 10,65	12,5 18,3 15,4		14,9 ± 2,3	
2' 9.	15,7	12,8	22,6 20,1 21,4		16,6 ± 2,5	
3' 10.	22,6		19,0 14,0 16,5		19,6 ± 3,0	
5' 11.	24,9	11,8	15,7		17,5 ± 3,9	
10' 12.	19,9				19,9	
20' 13.			22,3 14,9 18,6		18,6 ± 3,7	

Tabelle 20a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

ATP $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		1666.4
5	+	2358.5
10		1752.9
12	-	1639.3
20	+	2319.5
30		1603.8
31	-	1599.2
40		2104.4
45	+	2244.1
50		2116.3
60		1636.2
67	-	1525.2
90		2036.1
98	+	2091.6
120		1791.6
163	-	1346.1
180		1385.8
262	+	1650.6
300		1602.7
600		820.9
1.200		344.5

Tabelle 21a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

ADP $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		624.8
6	+	677.0
10		650.5
16	-	612.1
20		626.6
30	+	672.8
40		633.5
50	-	606.7
60		625.5
80	-	664.0
90		655.8
120		604.1
141	-	592.8
180		611.5
246	+	634.1
300		624.6
600		533.2
1.200		450.7

Tabelle 22a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

AMP [$\frac{nMol}{g\ Tgw}$]

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		94.7
4	-	86.6
10		97.9
14	+	101.9
20		93.0
25	-	87.6
30		90.8
40		102.8
42	+	103.4
50		99.2
60		90.8
66	-	89.3
90		102.4
105	+	106.6
120		104.1
167	-	93.9
180		94.7
300		116.6
405	+	121.0
406		121.0
600		122.4
1.200		155.2

Tabelle 23a

Summe der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

ΣATP + ADP + AMP [$\frac{nMol}{g\ Tgw}$]

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	ΣA
0		2374.9
6	+	3075.8
10		2495.3
12	-	2311.1
20	+	3044.5
30		2288.9
31	-	2278.6
40		2827.3
45	+	2993.4
50		2860.5
60		2338.1
66	-	2223.2
90		2820.5
98	+	2884.2
120		2550.3
160	-	2083.3
180		2149.7
270	+	2537.0
300		2503.1
600		1627.9
1.200		1011.7

Tabelle 24a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

$ATP \cdot AMP : ADP^2$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		0.50
7	-	0.40
10		0.43
16	+	0.51
20		0.47
28	-	0.39
30		0.40
40		0.48
45	+	0.50
50		0.48
60		0.42
69	-	0.39
90		0.46
106	+	0.49
120		0.47
177	-	0.38
180		0.38
300		0.46
318	+	0.46
600		0.36
1.200		0.28

Tabelle 25a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

ATP/ADP

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		2.8
4	+	3.6
10	-	2.6
18	+	3.6
20		3.4
30	-	2.7
40		3.4
41	+	3.5
50		3.0
60		2.5
62	-	2.5
90		3.3
91	+	3.3
120		2.7
153	-	2.3
180		2.4
248	+	2.7
300		2.6
600		1.4
1.200		0.7

Tabelle 26a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

$$\frac{Cr \cdot ATP}{CrP \cdot ADP}$$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		1.44
3	+	1.66
10		0.94
12	-	0.88
20		1.60
23	+	1.74
30		1.36
38	-	0.94
40		0.96
50		1.56
59	+	1.89
60		1.89
88	-	1.05
90		1.06
120		2.00
139	+	2.26
180		1.68
212	-	1.41
300		2.62
600		5.46
1.200		14.00

Tabelle 27a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

$$\frac{ATP + \frac{1}{2} ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		0.849
3	+	0.870
9	-	0.837
10		0.840
16	+	0.867
20		0.852
26	-	0.833
30		0.843
38	+	0.861
40		0.860
50		0.835
58	-	0.826
60		0.826
84	+	0.850
90		0.848
120		0.817
149	-	0.806
180		0.811
216	+	0.815
300		0.798
600		0.712
1.200		0.600

Tabelle 28a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

CrP $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		2316.8
5	+	2770.8
10		2333.0
12	-	2248.0
20	+	2672.8
30		2150.9
31	-	2143.3
40		2438.1
44	+	2511.0
50		2407.2
60		2057.2
68	-	1957.0
90		2191.4
94	+	2203.7
120		1937.2
180		1513.3
193	-	1510.7
199	-	1510.8
300		1322.9
600		536.0
1.200		114.4

Tabelle 29a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

Cr $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		1407.8
4	-	1160.9
10		1518.8
12	+	1567.8
20		1197.4
22	-	1174.2
30		1497.3
34	+	1588.8
40		1458.7
50	-	1194.3
60		1389.8
73	+	1626.8
90		1373.7
104	-	1233.8
120		1368.8
157	+	1711.1
180		1616.2
240	-	1341.9
300		1530.5
576		2108.5
600		2107.8
697		2102.3
1.200		2428.5

Tabelle 31a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

CrP/Cr

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		2.09
10	+	3.31
15	-	1.84
20		2.97
21	+	3.08
30	-	1.68
40		2.74
41	+	2.75
50		1.95
59	-	1.42
60		1.43
81	+	2.16
90		2.01
120		1.05
140	-	0.91
180		1.01
187	+	1.02
300		0.56
600		0.06
1.200		0.002

Tabelle 32a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

G-6-P $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		91.7
6	-	69.8
10		83.9
15	+	98.7
20		88.0
27	-	72.4
30		75.4
44	+	104.2
50		99.5
60		82.9
67	-	78.2
90		104.5
104	+	117.5
120		114.6
166	-	94.7
180		96.9
300		166.6
600		241.4
1.200		656.9

Tabelle 33a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

α-GP $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		783.4
2	+	810.6
8	-	674.6
10		704.7
15	+	802.1
20		734.2
26	-	664.2
30		700.9
39	+	786.0
40		784.4
50		694.4
59	-	644.5
60		644.5
88	+	752.0
90		751.5
120		649.4
152	-	595.5
180		614.1
239	+	649.3
300		622.2
600		412.4
1.200		237.8

Tabelle 34a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

Pyruvat $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		133.5
4	+	179.4
10	-	130.1
17	+	175.6
20		161.7
26	-	126.6
30		136.3
39	+	169.0
40		168.4
50		134.5
58	-	119.7
60		120.4
85	+	155.9
90		154.0
120		115.1
145	-	103.6
180		112.5
223	+	119.5
300		105.7
600		48.8
1.200		17.0

Tabelle 35a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

Lactat $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		3170.7
8	-	2554.0
10		2601.0
18	+	3046.1
20		3014.6
30		2459.2
33	-	2419.7
40		2606.4
50	+	2837.9
60		2617.7
80	-	2182.3
90		2250.5
114	+	2449.1
120		2432.4
180		1771.3
300		1570.9
600		764.0
1.200		183.0

Tabelle 36a

Quotient der Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

Lactat/Pyruvat

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Quotient
0		20.1
5	-	15.2
10		19.0
15	+	21.9
20		19.6
30	-	14.9
40		18.3
50		21.2
52	+	21.3
60		20.3
90		14.3
95	-	14.2
120		16.0
179	+	19.3
180		19.3
300		15.2
600		9.8
1.200		6.6

Tabelle 37a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

Malat $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		23.4
10		33.4
12	+	37.3
18	-	22.9
20		26.4
25	+	36.8
30		28.9
35	-	22.4
40		27.5
48	+	35.9
50		35.4
60		25.4
68	-	21.6
90		32.9
97	+	34.0
120		26.9
154	-	19.6
180		21.8
258	+	28.2
300		27.0
600		13.1
1.200		6.3

Tabelle 38a

Metabolitspiegel unter JAA-Applikation

ß-HOB $[\frac{nMol}{g\ Tgw}]$

Zeit [sec]	Max.=+ Min.=-	Metabolit
0		10.5
7	+	14.8
10		13.9
17	-	10.5
20		11.4
29	+	15.0
30		14.9
45	-	10.7
50		11.5
60		14.5
67	+	15.3
90		11.5
97	-	11.0
120		13.6
148	+	16.1
180		14.3
231	-	11.9
300		14.5
515	+	19.4
600		19.2
772		18.9
1.200		21.3

G. ABBILDUNGEN

1. Kontrollserien - Mittelwerte

   Abb. 2.0 bis 8.0

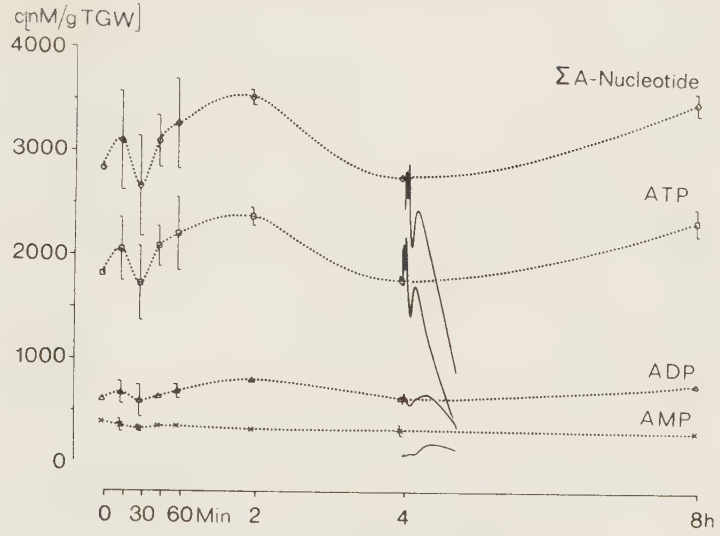
c[nM/g TGW]
4000
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 2.0

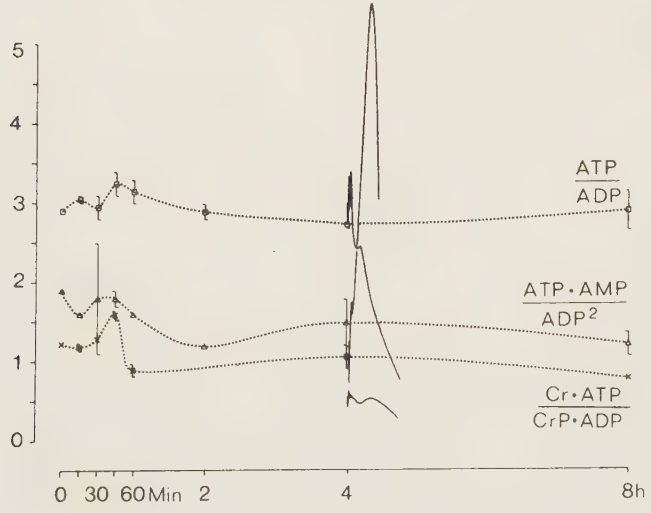
5
4
3
2
1
0
ATP / ADP
ATP·AMP / ADP²
Cr·ATP / CrP·ADP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 3.0

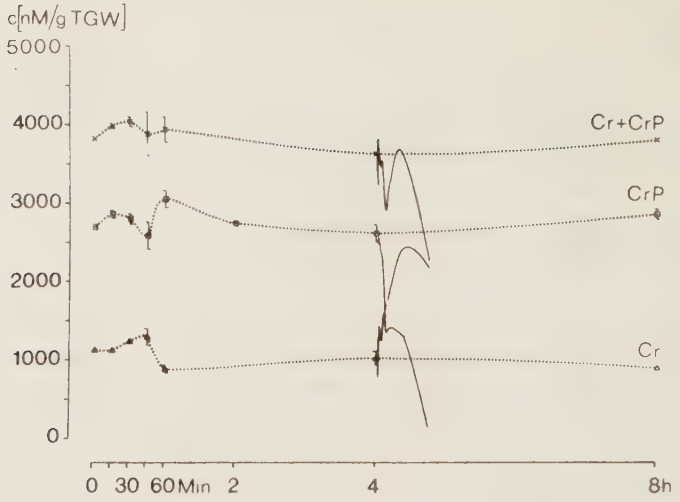
c[nM/g TGW]
5000
4000
3000
2000
1000
0
Cr+CrP
CrP
Cr
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 4.0

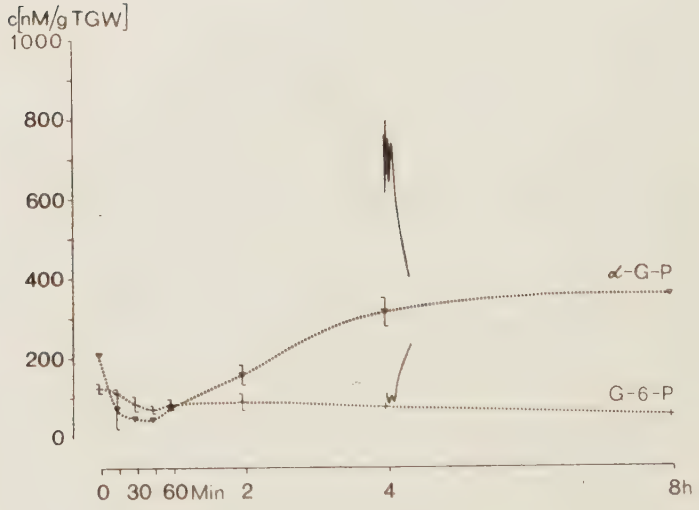
c[nM/g TGW]
1000
800
600
400
200
0
α-G-P
G-6-P
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 5.0

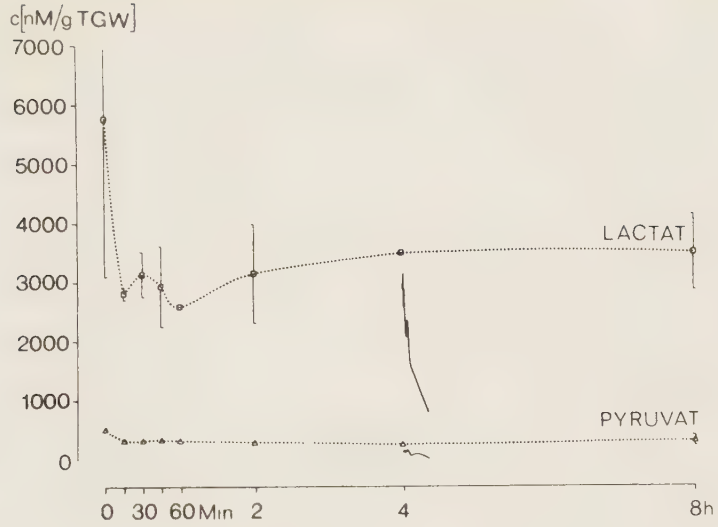
c[nM/g TGW]
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
LACTAT
PYRUVAT
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 6.0

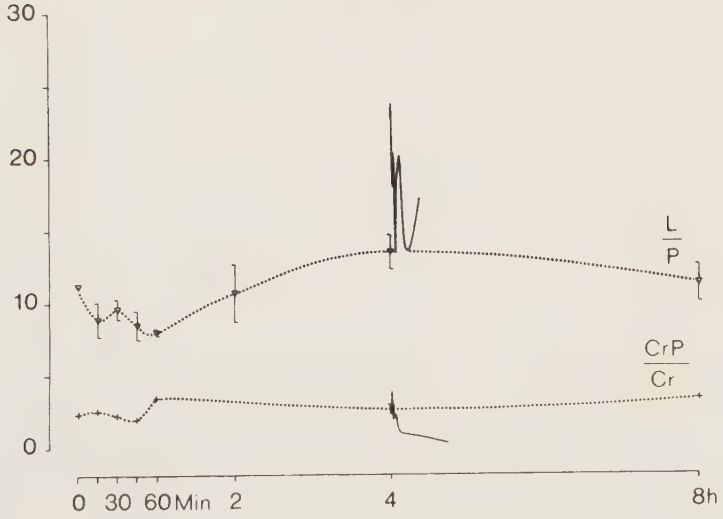
30
20
10
0
L/P
CrP/Cr
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 7.0

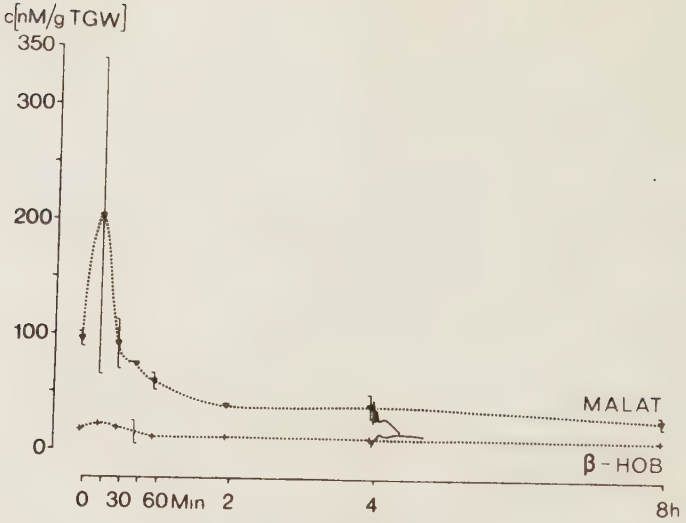

Abb. 8.0

2. Applikationsserien - Mittelwerte

Abb. 9.0 bis 15.0

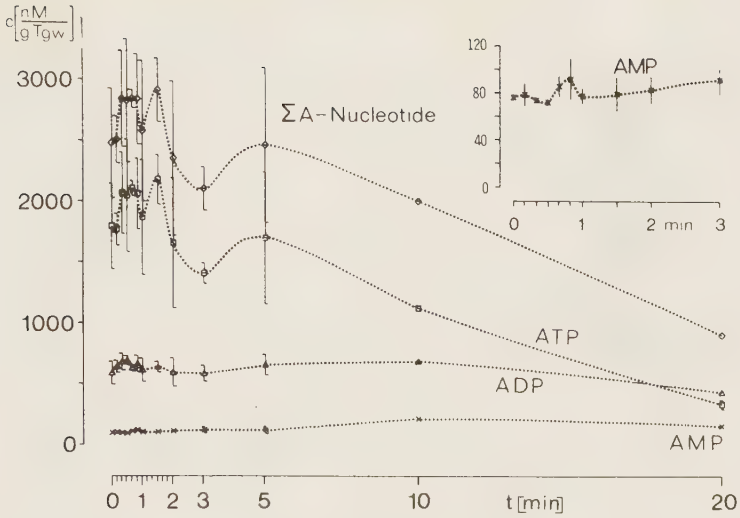

Abb. 9.0

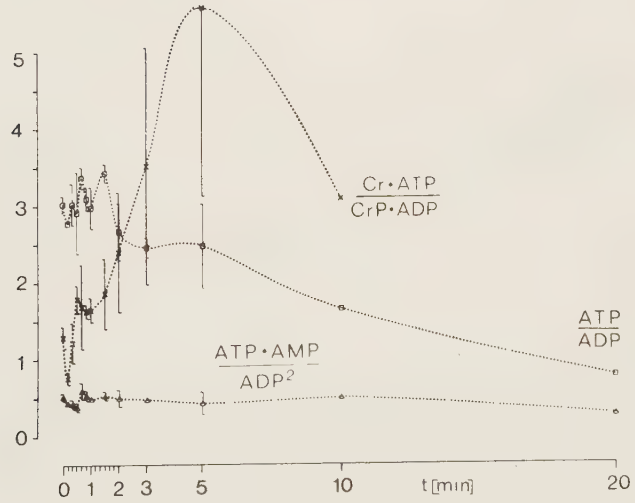

Abb. 10.0

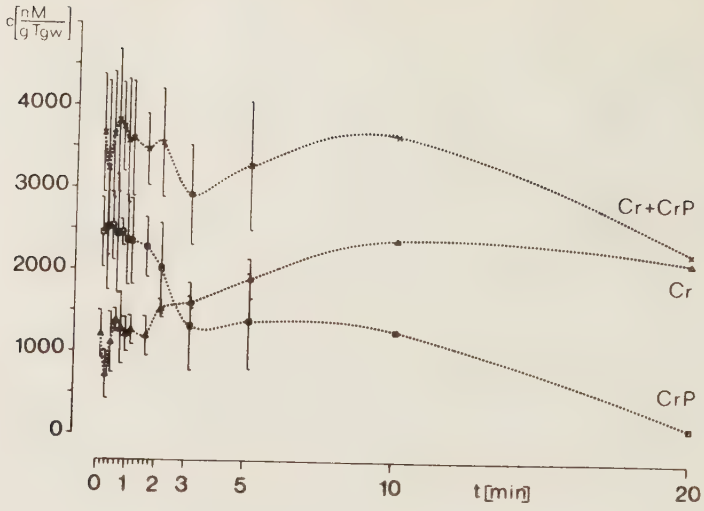

Abb. 11.0

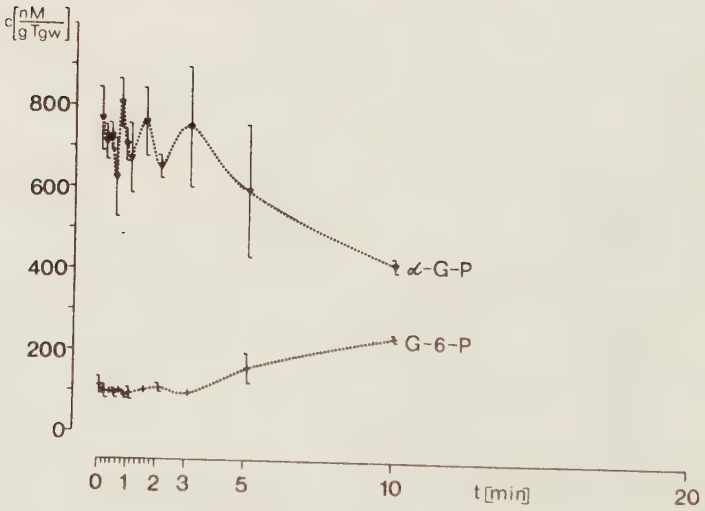

Abb. 12.0

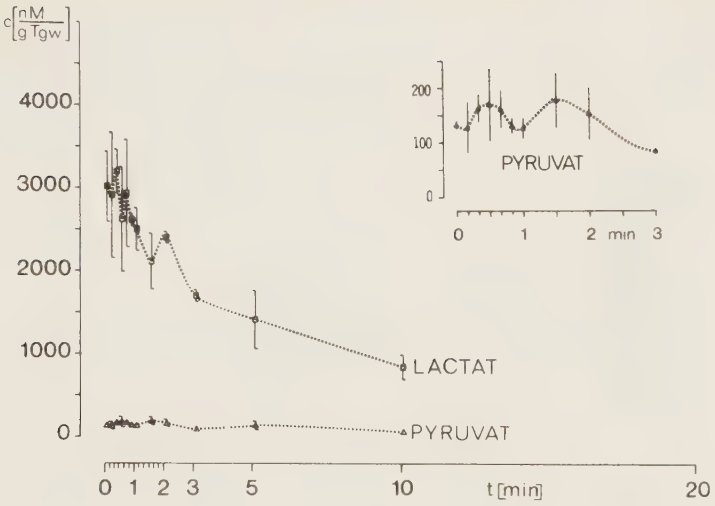

Abb. 13.0

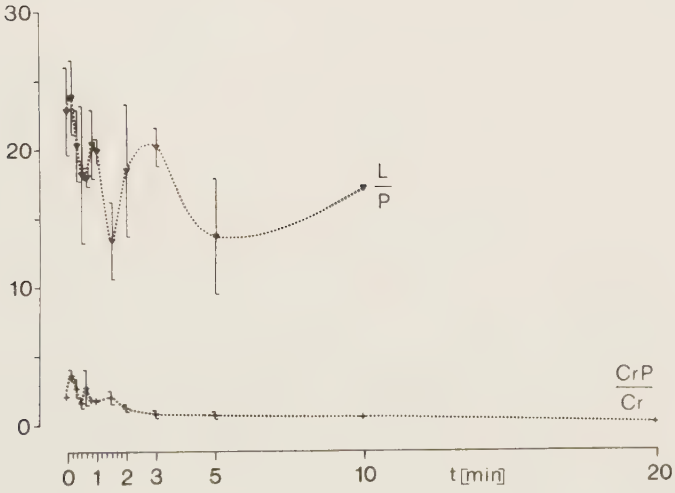

Abb. 14.0

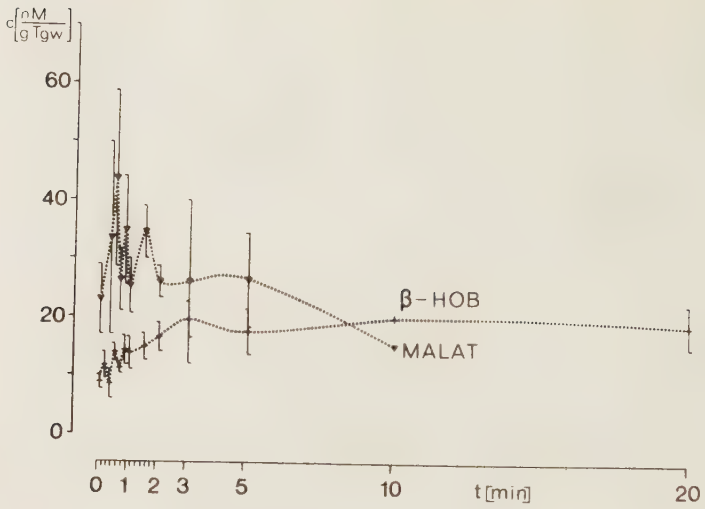

Abb. 15.0

3. Applikationsserien - iterativ optimiert

Abb. 9.a bis 15.a

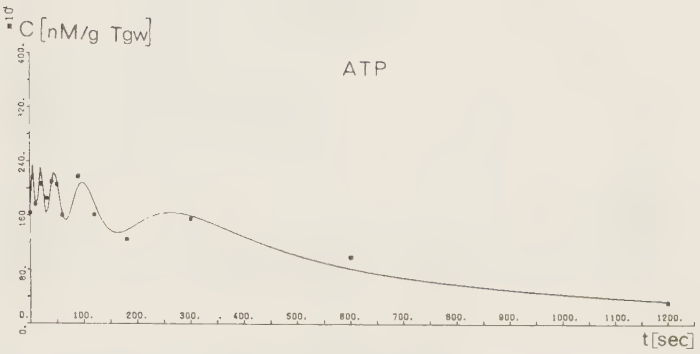

Abb. 9.a

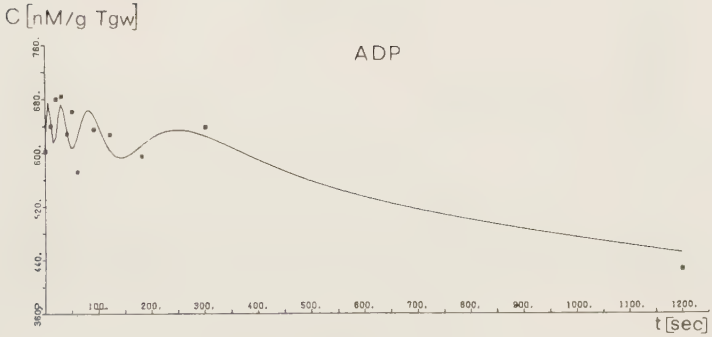

Abb. 9.b

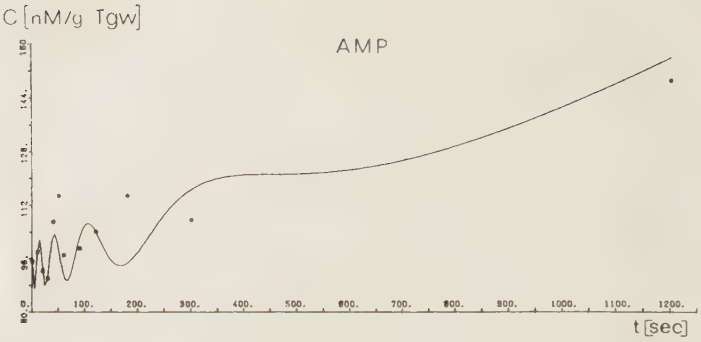

Abb. 9.c

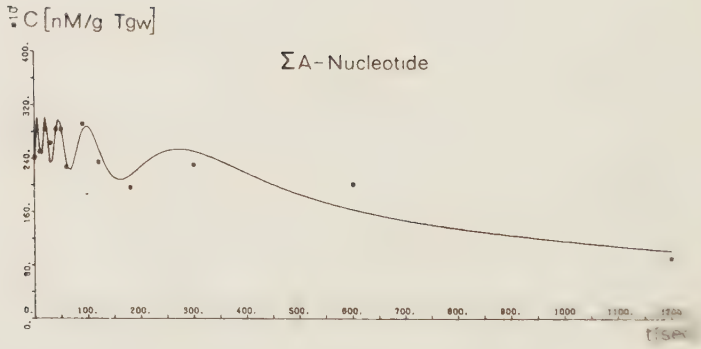

Abb. 9.d

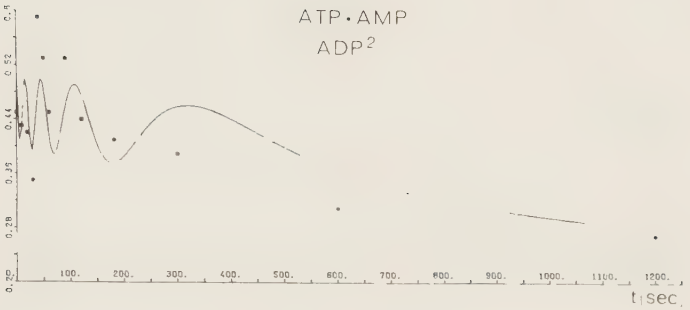

Abb. 10.a

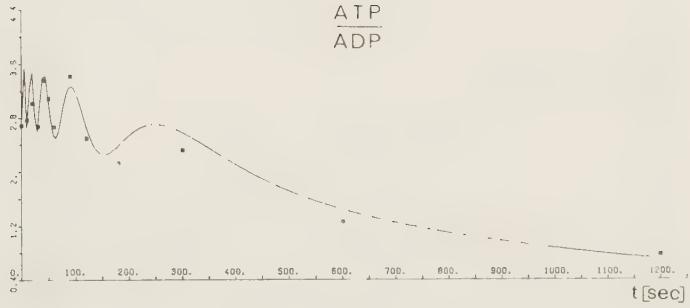

Abb. 10.b

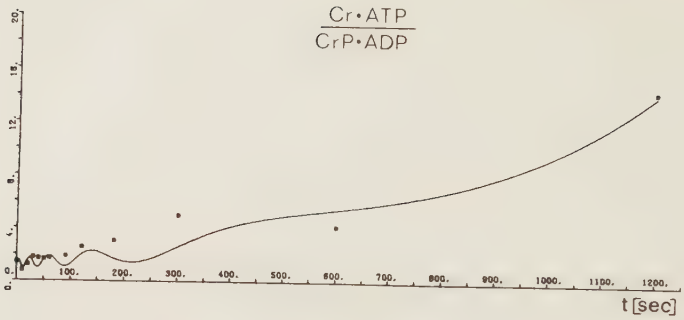

Abb. 10.c

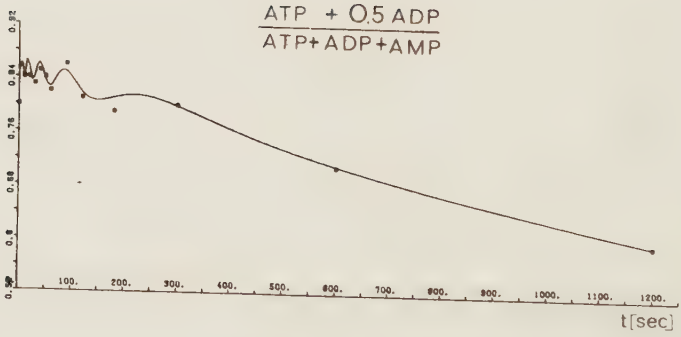

Abb. 10.d

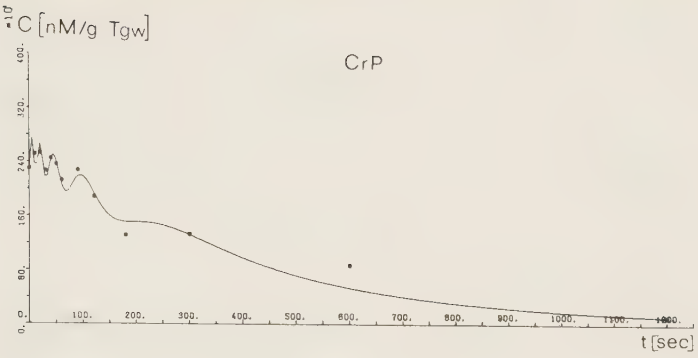

Abb. 11.a

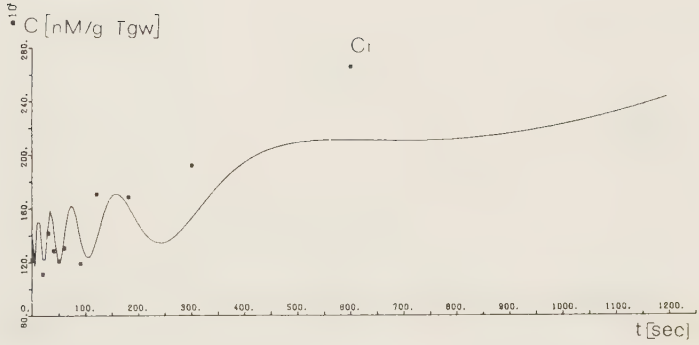

Abb. 11.b

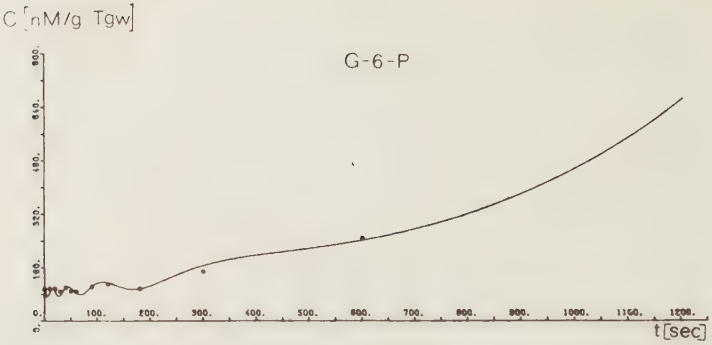

Abb. 12.a

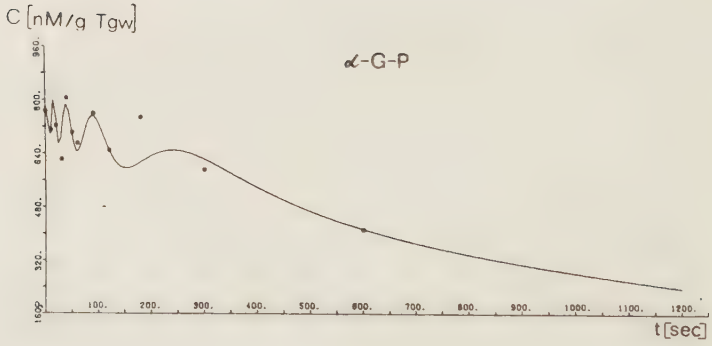

Abb. 12.b

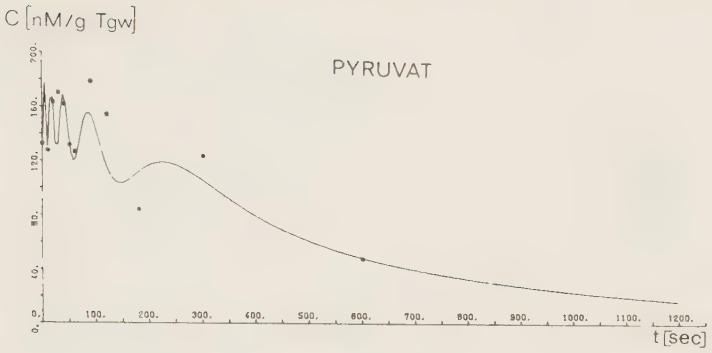

Abb. 13.a

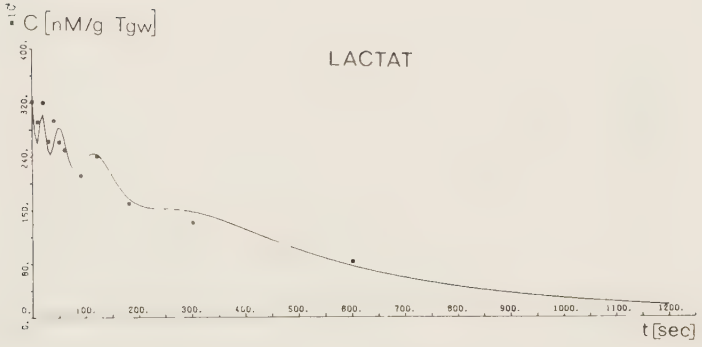

Abb. 13.b

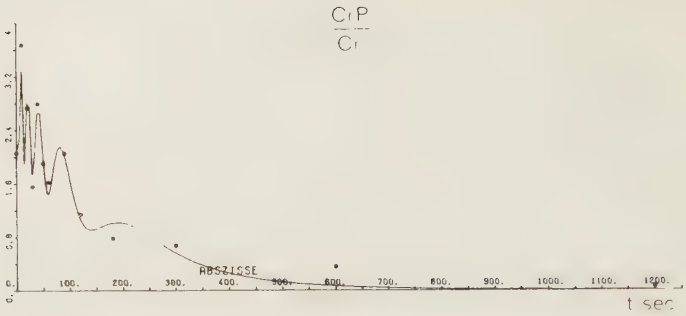

Abb. 14a

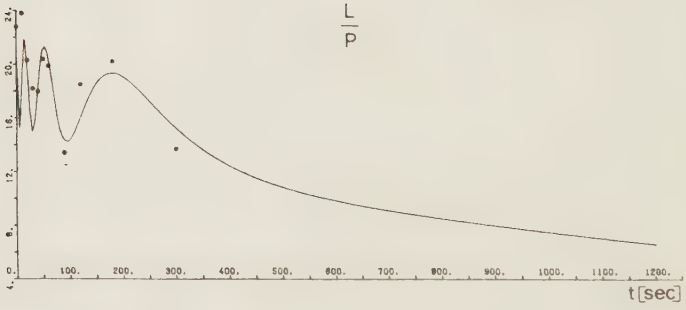

Abb. 14.b

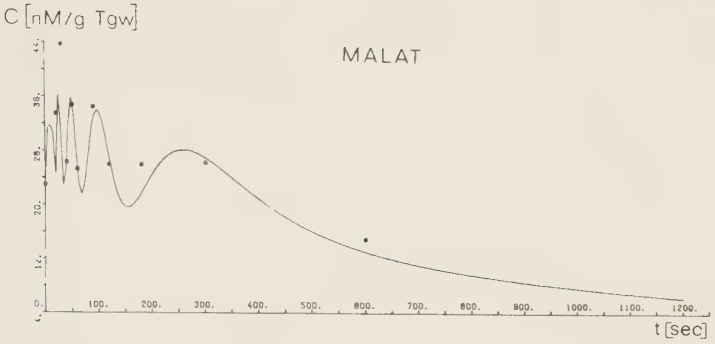

Abb. 15.a

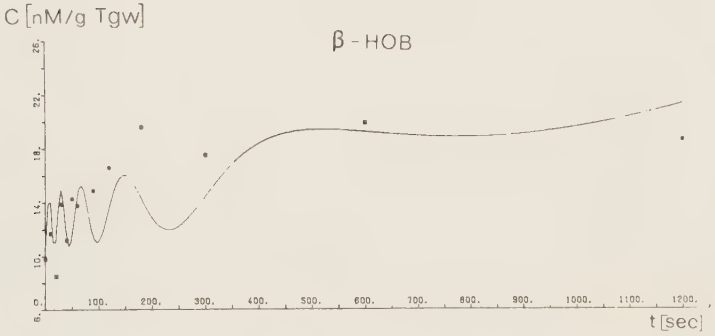

Abb. 15.b

4. Kontroll- und Applikationsserien - Einzelwerte

Abb. 2.1 bis 15.3

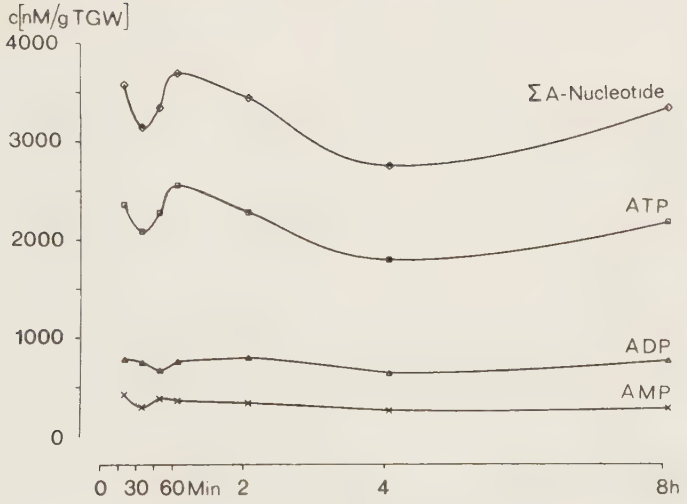
c[nM/g TGW]
4000
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 2.1

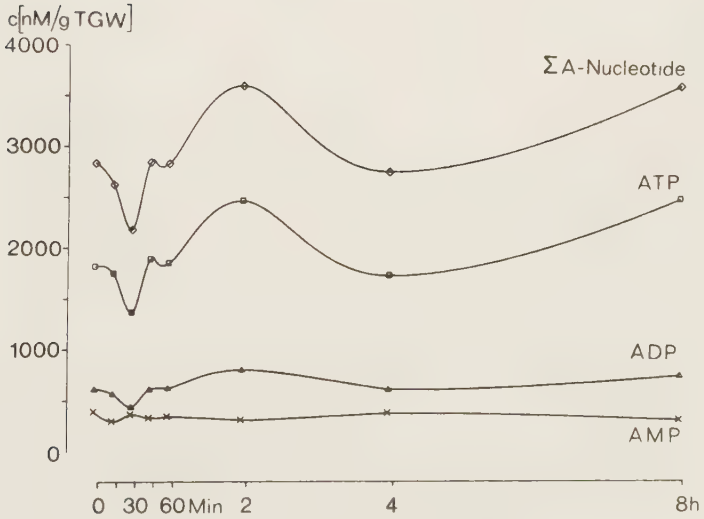
c[nM/g TGW]
4000
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 2.2

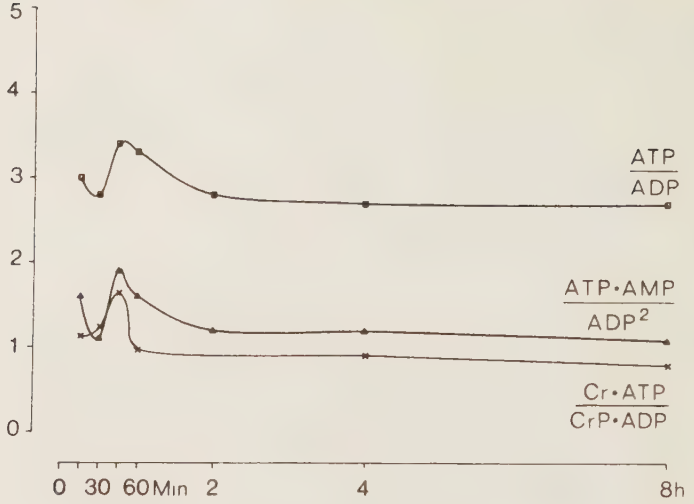
5
4
3
2
1
0
ATP / ADP
ATP·AMP / ADP²
Cr·ATP / CrP·ADP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 3.1

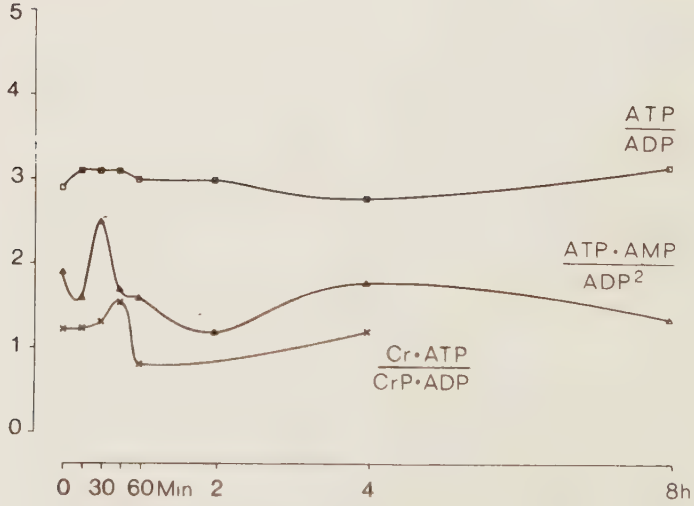
5
4
3
2
1
0
ATP / ADP
ATP·AMP / ADP²
Cr·ATP / CrP·ADP
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 3.2

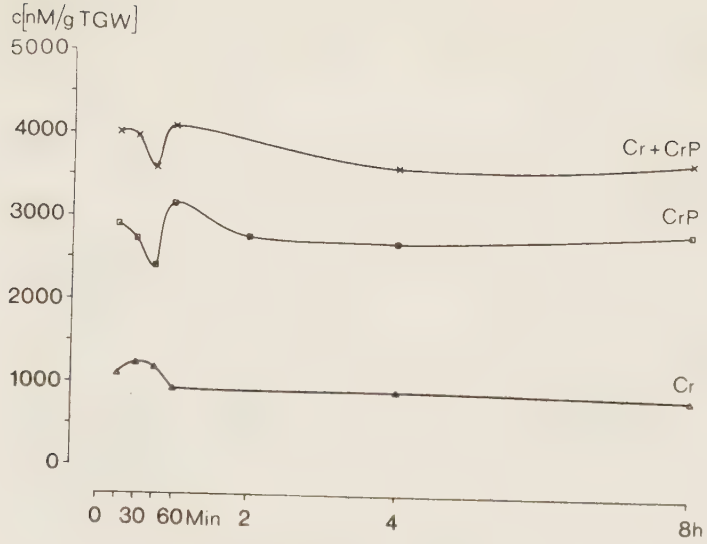
c[nM/g TGW]
5000
4000
3000
2000
1000
0
Cr + CrP
CrP
Cr
0 30 60 Min 2 4 8h

Abb. 4.1

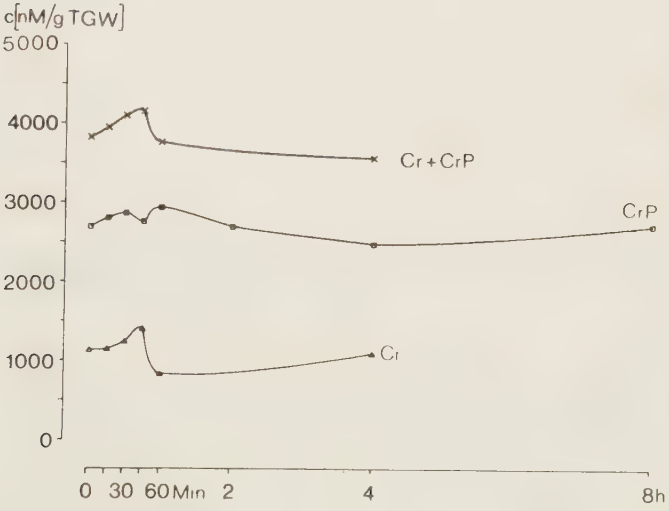
c[nM/g TGW]
5000
4000
3000
2000
1000
0
Cr + CrP
CrP
Cr
0 30 60 Min 2 4 8h

Abb. 4.2

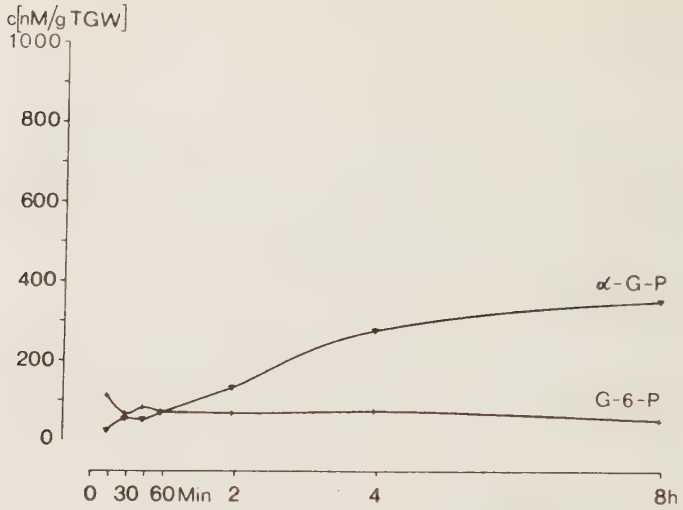
c[nM/g TGW]
1000
800
600
400
200
0
α-G-P
G-6-P
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 5.1

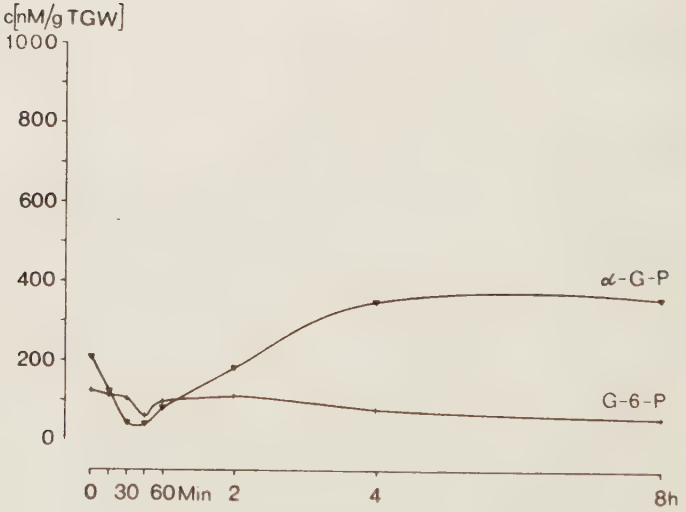
c[nM/g TGW]
1000
800
600
400
200
0
α-G-P
G-6-P
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 5.2

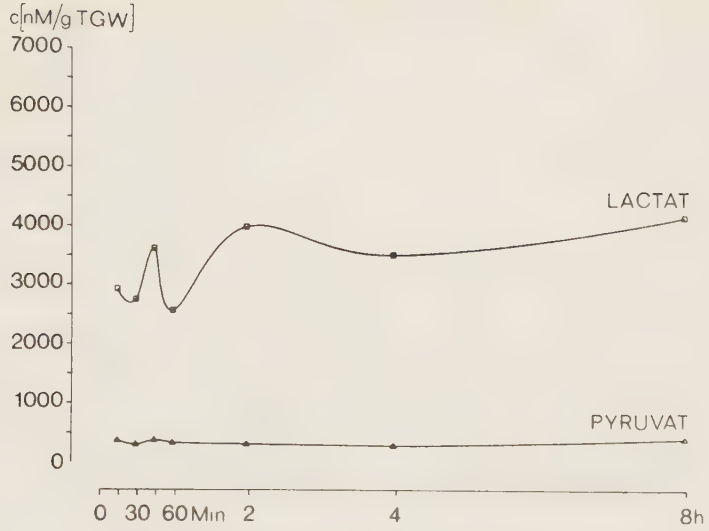
c[nM/g TGW]
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
LACTAT
PYRUVAT
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 6.1

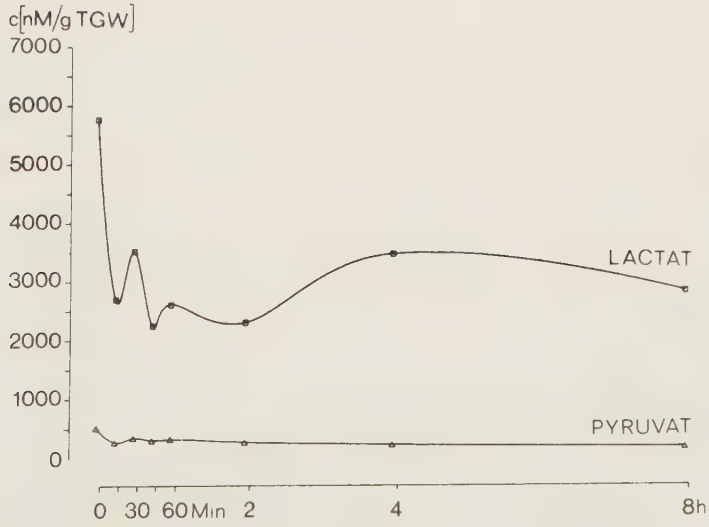
c[nM/g TGW]
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
LACTAT
PYRUVAT
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 6.2

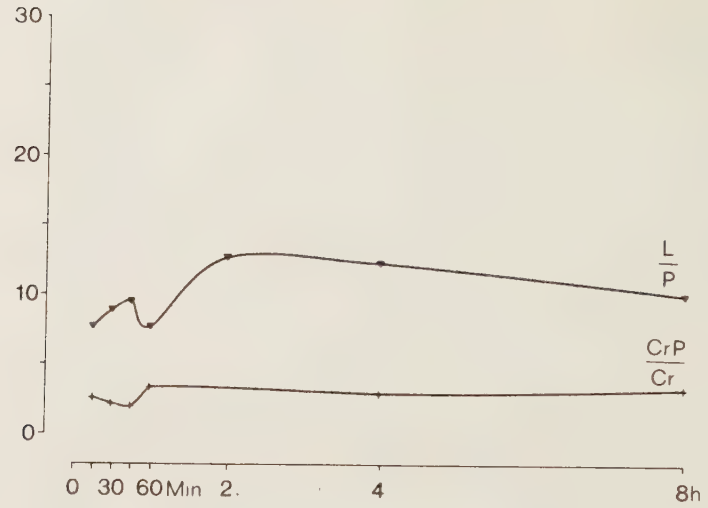
30
20
10
0
L/P
CrP/Cr
0 30 60Min 2. 4 8h

Abb. 7.1

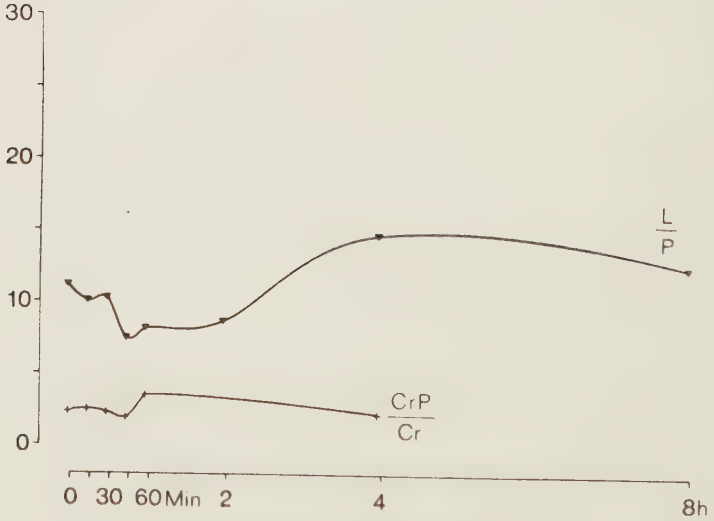
30
20
10
0
L/P
CrP/Cr
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 7.2

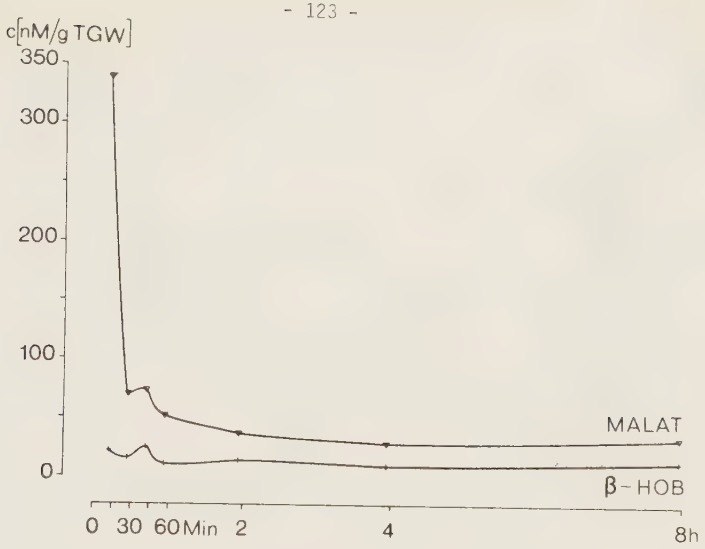
c[nM/g TGW]
350
300
200
100
0
MALAT
β-HOB
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 8.1

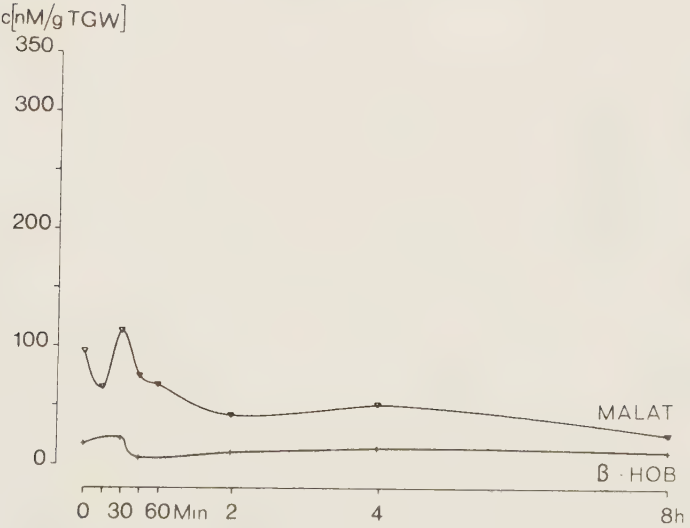
c[nM/g TGW]
350
300
200
100
0
MALAT
β-HOB
0 30 60Min 2 4 8h

Abb. 8.2

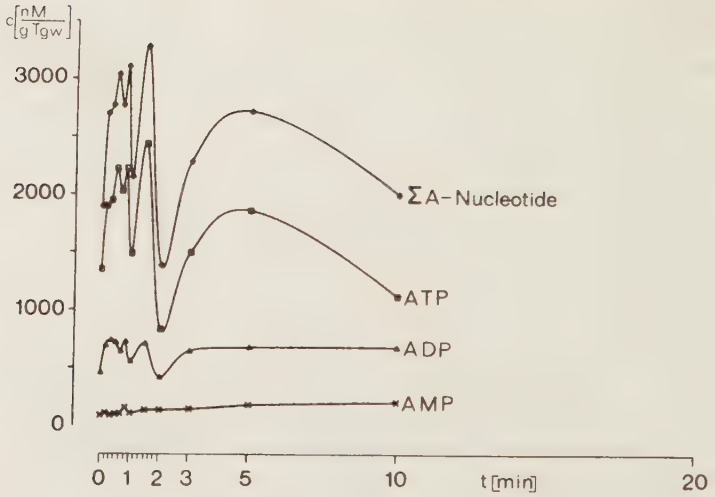
c [nM / g Tgw]
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 1 2 3 5 10 20
t [min]

Abb.9.1

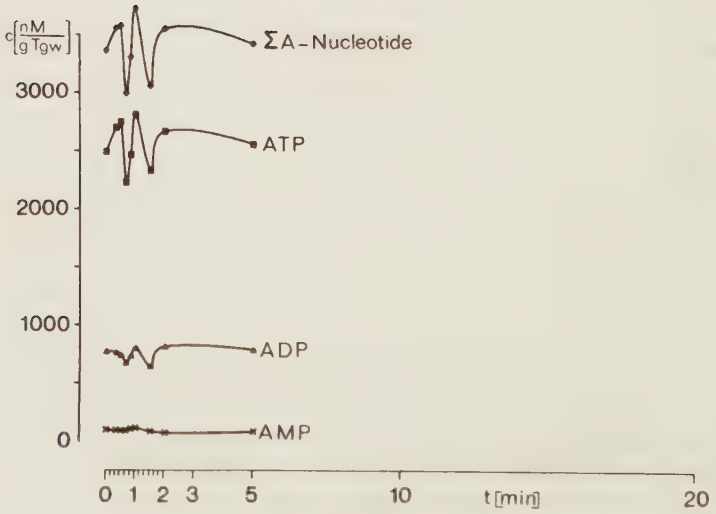
c [nM / g Tgw]
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 1 2 3 5 10 20
t [min]

Abb. 9.2

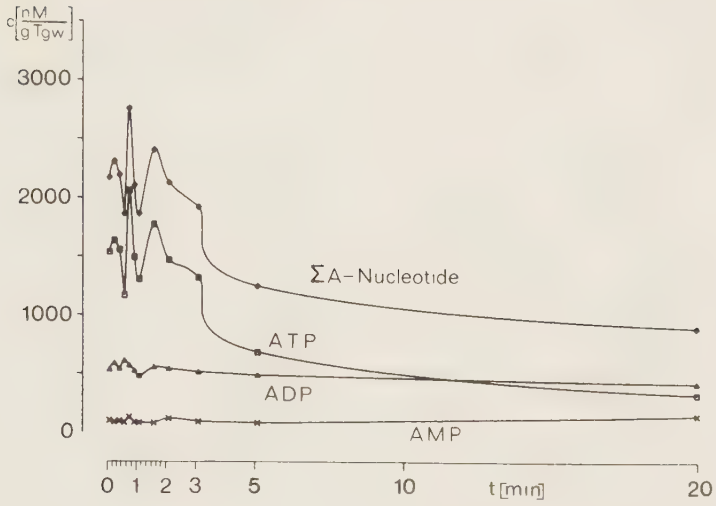
c [nM / g Tgw]
3000
2000
1000
0
ΣA-Nucleotide
ATP
ADP
AMP
0 1 2 3 5 10 20
t [min]

Abb. 9.3

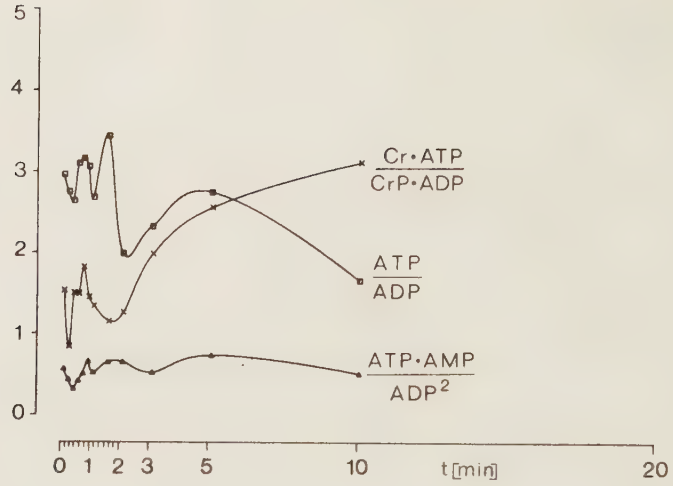

Abb. 10.1

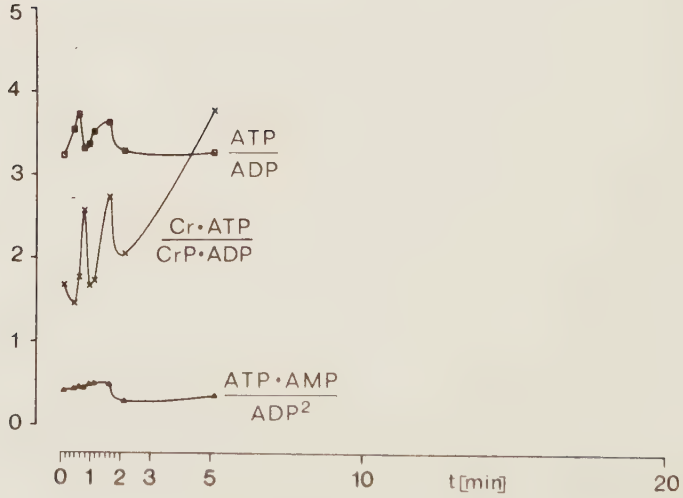

Abb. 10.2

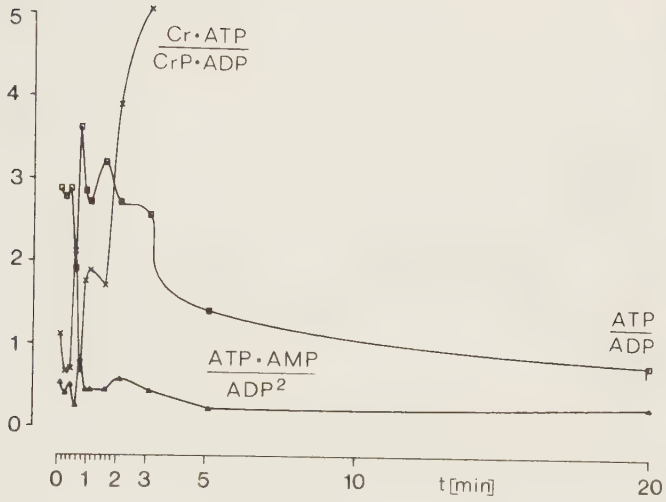

Abb. 10.3

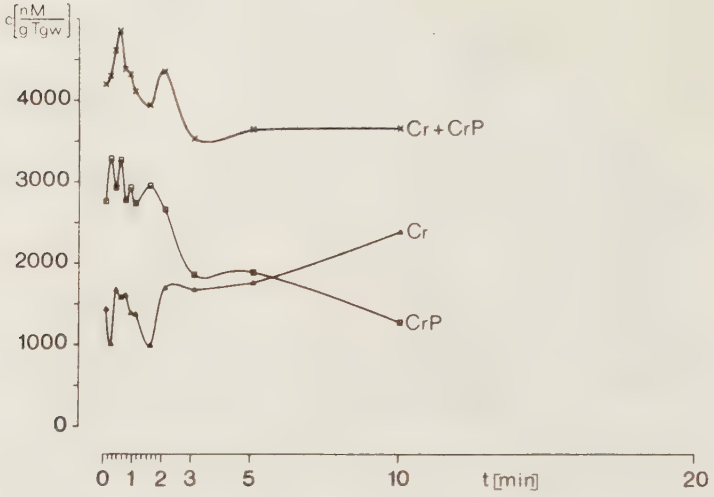

Abb. 11.1

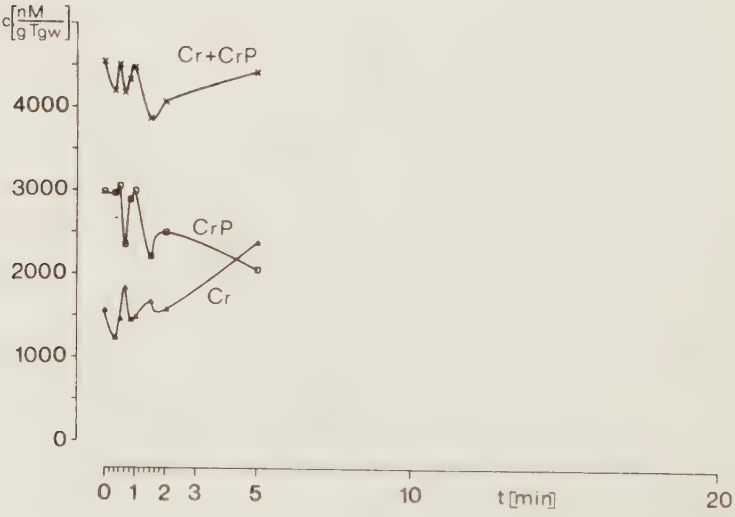

Abb. 11.2

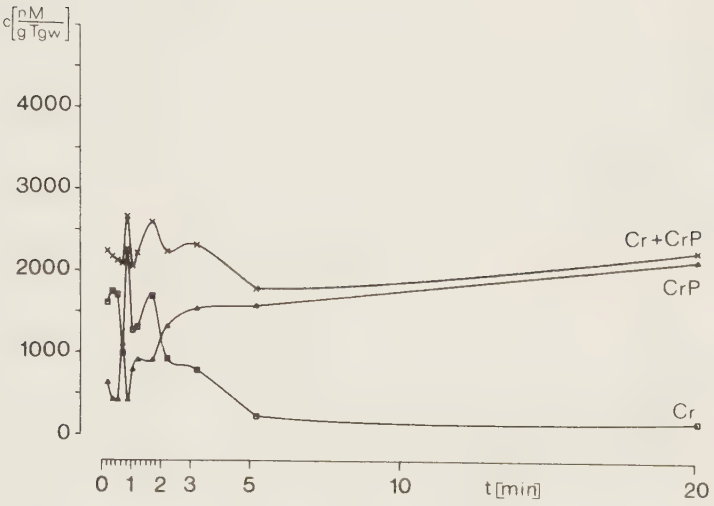

Abb. 11.3

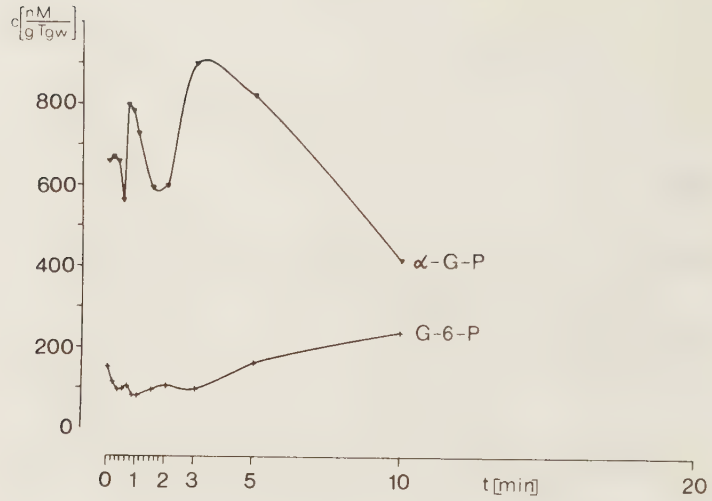

Abb. 12.1

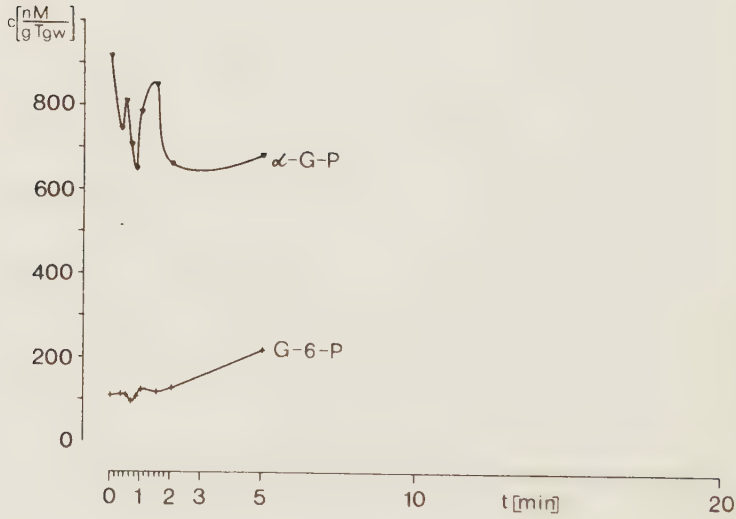

Abb. 12.2

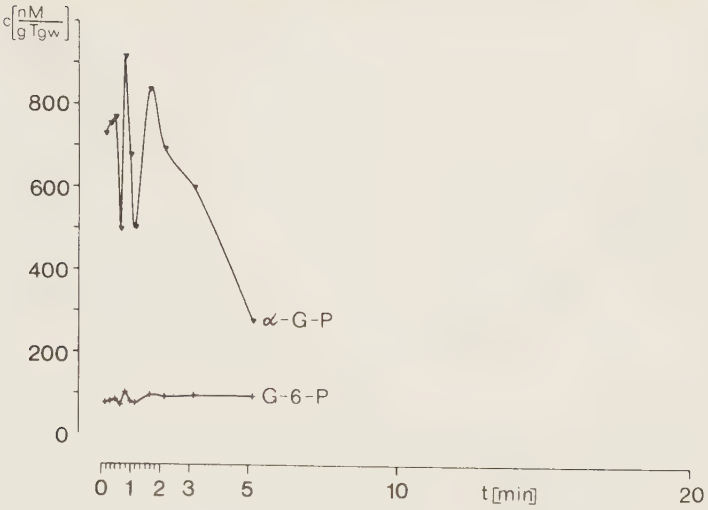

Abb. 12.3

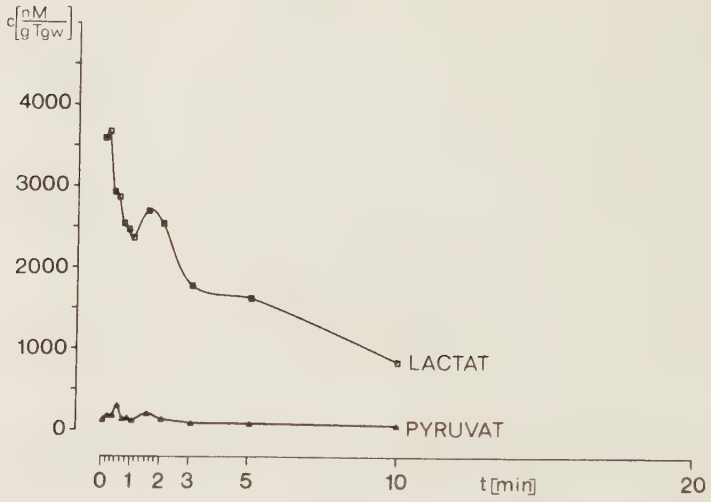

Abb. 13.1

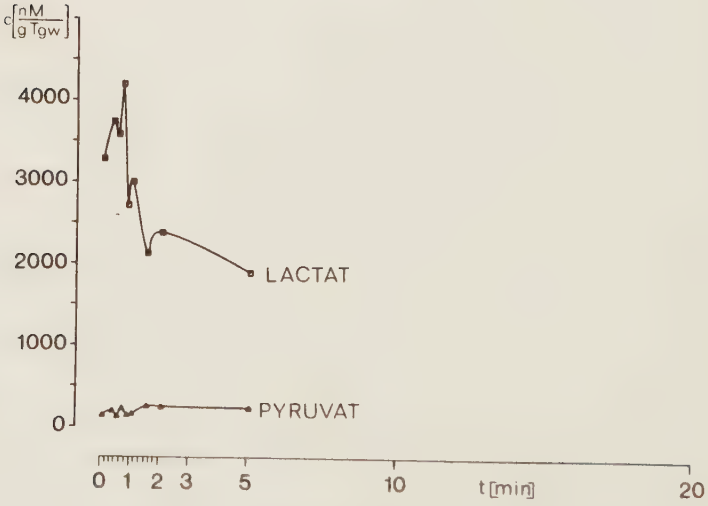

Abb. 13.2

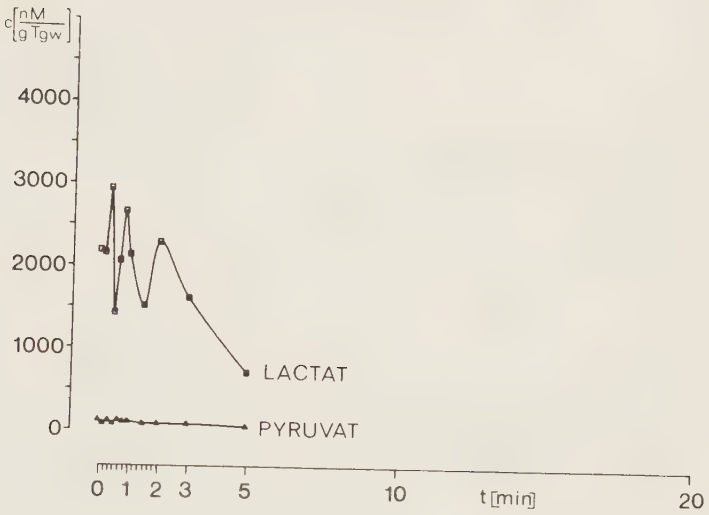
c [nM / g Tgw]
4000
3000
2000
1000
0
LACTAT
PYRUVAT
0 1 2 3 5 10 20
t [min]

Abb. 13.3

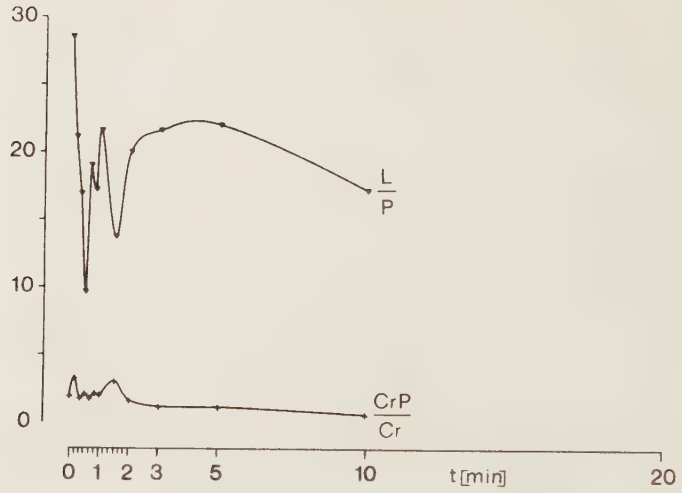

Abb. 14.1

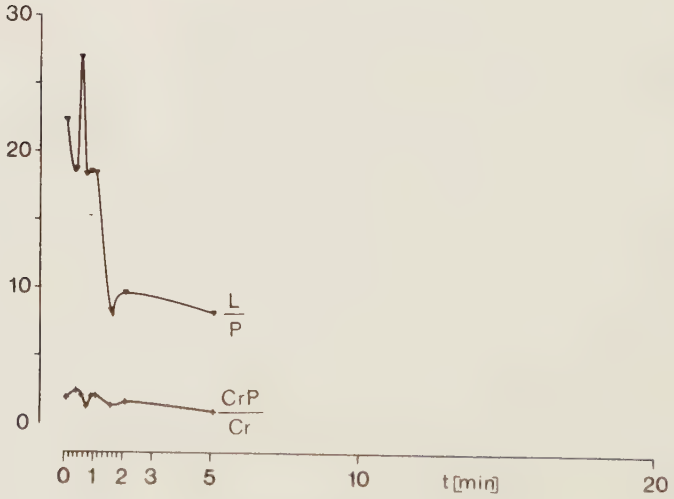

Abb. 14.2

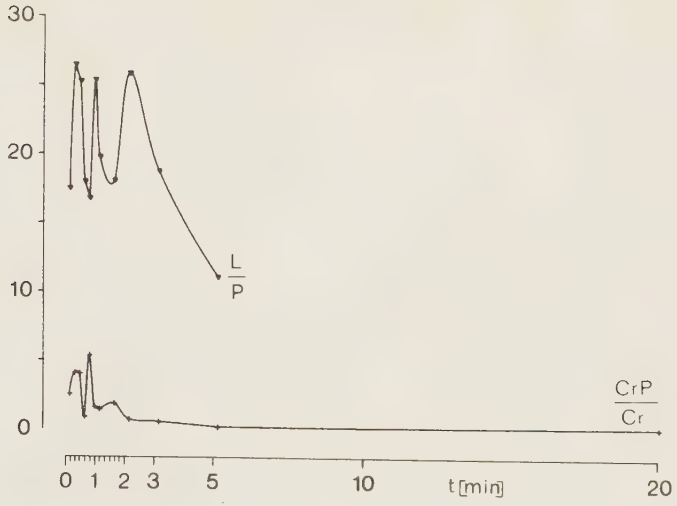

Abb. 14.3

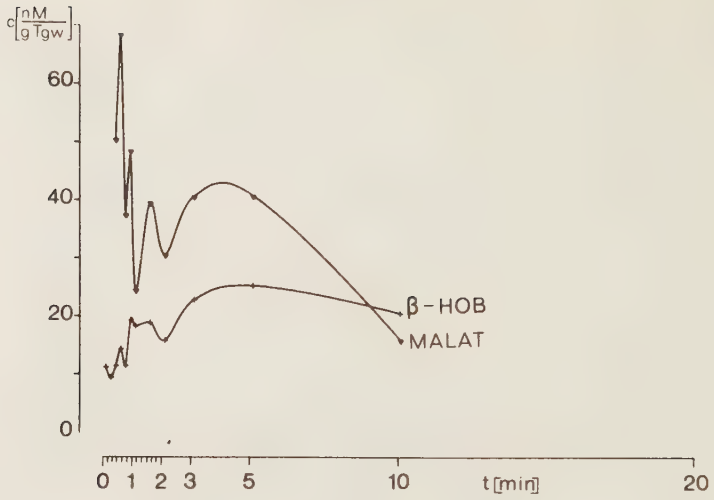

Abb. 15.1

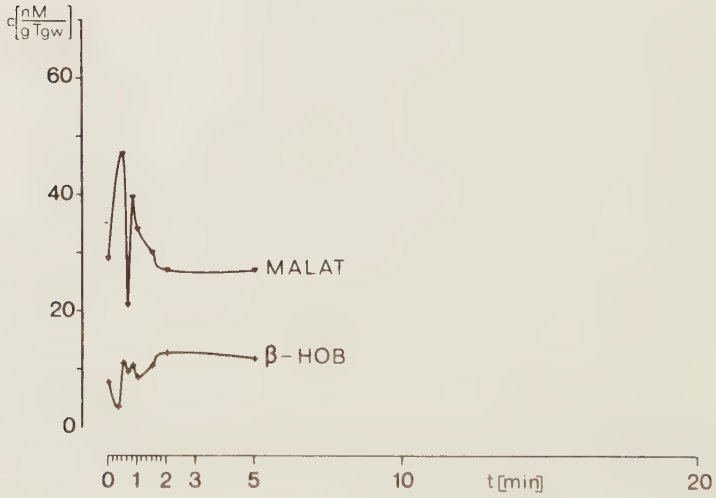

Abb. 15.2

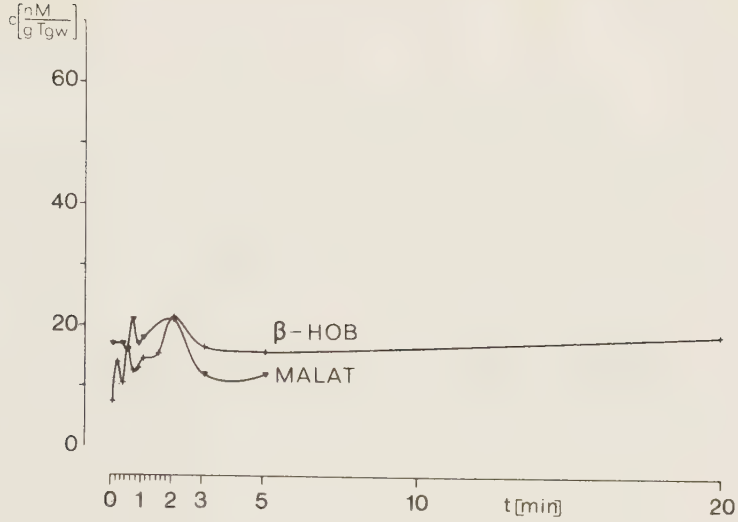

Abb. 15.3

H. LITERATUR

1. Arese, P., Bosia, A. and Rossini, L.: Short-term effects of iodoacetate and cyanide on glycolytic-, citric acid cycle-, and high energy-intermediates in frog heart in vivo. Ital. J. Biochem. 17, 264-273 (1968).
2. Arvanitaki, A.: Recherches sur la rêponse oscillatoire locale de l' axone gêant isolê de "Sepia". Arch. Intern. Physiol. 49, 209-256 (1939).
3. Atkinson, D.E.: Biological feedback control at the molecular level. Science 150, 851-857 (1965).
4. Atkinson, D.E. and Walton, G.M.: Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. J. Biol. Chem. 242, 3239-3241 (1967).
5. Atkinson, D.E. and Fall, L.: Adenosine triphosphate conservation in biosynthetic regulation. J. Biol. Chem. 242, 3241-3242 (1967).
6. Atkinson, D.E.: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. Biochemistry 7, 4030-4034 (1968).
7. Baker, P.F., Blaustein, M.P., Hodgkin, A.L. and Steinhardt, R.A.: The influence of calcium on sodium efflux in squid axons. J. Physiol. (Lond.) 200, 431-458 (1969).
8. Barlett, G.R. and Shafer, A.W.: Phosphorylated carbohydrate intermediates of the human erythrocyte during storage in acid citrate dextrose. II. Effect of the addition of inosine late in storage. J. Clin. Invest. 40, 1185-1193 (1961).
9. Benson, E.S., Evans, G.T., Halaway, B.E., Phibbs, C. and Freier, E.F.: Myocardial creatine phosphate and nucleotides in anoxic cardiac arrest and recovery. Am. J. Physiol. 201, 687-693 (1961).
10. Bergmeyer, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. I u. II, Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße (1970).
11. Berne, R.M.: Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow. Am. J. Physiol. 204, 317-322 (1963).
12. Bishop, C.: Purine metabolism in human and chicken blood, in vitro. J. Biol. Chem. 235, 3228-3232 (1960).
13. Bohr, D.F., Seidel, C. and Sobieski, J.: Possible role of sodium-calcium pumps in tension development of vascular smooth muscle. Microvasc. Res. 1, 335-343 (1969).
14. Boiteux, A. and Hess, B.: Control mechanism of glycolytic oscillations. In: Biological and Biochemical Oscillators, Academic Press Inc., New York and London 1973, pp. 243-251.
15. Bücher, Th. und Klingenberg, M.: Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation. Angewandte Chemie 70, 552-570 (1958).
16. Bülbring, E.: Measurements of oxygen consumption in smooth muscle. J. Physiol. (Lond.) 122, 111-134 (1953).
17. Carlson, F.D. and Siger, A.: The creatine phosphoryltransfer reaction in iodoacetate-poisoned muscle. J. Gen. Physiol. 43, 301-313 (1959).
18. Carlson, F.D. and Siger, A.: The mechanochemistry of muscular contraction. I. The isometric twitch. J. Gen. Physiol. 44, 33-60 (1960).
19. Chance, B. and Williams, G.R.: Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. J. Biol. Chem. 217, 383-393 (1955a).
20. Chance, B. and Williams, G.R.: Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. III. The steady state. J. Biol. Chem. 217, 409-427 (1955b).

21. Chance, B., Mauriello, G. and Aubert, X.M.: ADP arrival at muscle mitochondria following a twitch. In Rodahl, K. and Horvath, S. (eds.): Muscle as a Tissue. New York: McGraw Hill 1962, pp. 128-145.
22. Chance, B. and Weber, A.: The steady state of cytochrome b during rest and after contraction in frog sartorius. J. Physiol. (Lond.) 169, 263-277 (1963).
23. Chance, B., Estabrook, R.W. and Ghosh, A.: Damped sinusoidal oscillations of cytoplasmic reduced pyridine nucleotide in yeast cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 51, 1244-1251 (1964a).
24. Chance, B., Hess, B. and Betz, A.: DPNH oscillations in a cell-free extract of S. Carlsbergensis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 16, 182-187 (1964b).
25. Chance, B., Schoener, B. and Elsaesser, S.: Control of the waveform of oscillations of the reduced pyridine nucleotide level in a cell-free extract. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 52, 337-341 (1964c).
26. Chance, B., Schoener, B. and Elsaesser, S.: Metabolic control phenomena involved in damped sinusoidal oscillations of reduced diphosphopyridine nucleotide in a cell-free extract of saccharomyces carlsbergensis. J. Biol. Chem. 240, 3170-3181 (1965a).
27. Chance, B., Estabrook, R.W. and Williamson, J.R.: In: Control of Energy Metabolism. New York 1965b, Academic Press.
28. Chance, B. and Yoshioka, T.: Sustained oscillations of ionic constituents of mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. 117, 451-465 (1966).
29. Conway, E.J. and Cooke, R.: LIX. The deaminases of adenosine and adenylic acid in blood and tissues. Biochem. J. 33, 479-492 (1939).
30. Cox, R.H., Jones, A.W. and Fischer, G.M.: Carotid artery mechanics, connective tissue, and electrolyte changes in puppies. Am. J. Physiol. 227, 563-568 (1974).
31. Dahms, A.S. and Boyer, P.D.: Occurrence and characteristics of ^{18}O exchange reactions catalyzed by sodium- and potassium-dependent adenosine triphosphatases. J. Biol. Chem. 248, 3155-3162 (1973).
32. Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen. Hrsg. J.R. Geigy A.G., Pharma, Basel 1969, pp. 156 ff., 32.
33. Duysens, L.N.M. and Amesz, J.: Fluorescence spectrophotometry of reduced phosphopyridine nucleotide in intact cells in the near-ultraviolet and visible region. Biochim. Biophys. Acta 24, 19-26 (1957).
34. Dydynska, M. and Harris, E.J.: Consumption of high-energy phosphates during active sodium and potassium interchange in frog muscle. J. Physiol. (Lond.) 182, 92-109 (1966).
35. Fahn, S., Koval, G.J. and Albers, R.W.: Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of electrophorus electric organ. I. An associated sodium-activated transphosphorylation. J. Biol. Chem. 241, 1882-1889 (1966a).
36. Fahn, S., Hurley, M.R., Koval, G.J. and Albers, R.W.: Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of electrophorus electric organ. II. Effects of N-ethylmaleimide and other sulfhydryl reagents. J. Biol. Chem. 241, 1890-1895 (1966b).
37. Fahn, S., Koval, G.J. and Albers, R.W.: Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of electrophorus electric organ. V. Phosphorylation by adenosine triphosphate-^{32}P. J. Biol. Chem. 243, 1993-2002 (1968).
38. Flaks, J.G., Erwin, M.J. and Buchanan, J.M.: Biosynthesis of the purines. XVI. The synthesis of adenosine 5'-phosphate and 5-amino-4-imidazolecarboxamide ribotide by a nucleotide pyrophosphorylase. J. Biol. Chem. 228, 201-213 (1957).

39. Fox, I.H. and Kelley, W.N.: Human phosphoribosyl-pyrophosphate synthetase. Kinetic mechanism and end product inhibition. J. Biol. Chem. 247, 2126-2131 (1972).
40. Frenkel, R.: Reduced diphosphopyridine nucleotide oscillations in cell-free extracts from beef heart. Arch. Biochem. Biophys. 115, 112-121 (1966).
41. Gerlach, E. und Lübben, K.: Der Phosphat-Stoffwechsel in Tauben- und Menschen-Erythrozyten unter dem Einfluß von 2,4-Dinitrophenol, Natriumcyanid, Monojodacetat sowie von Thyroxin und Triäthylenmelamin. Pflügers Arch. ges. Physiol. 269, 520-554 (1959).
42. Ghosh, A. and Chance, B.: Oscillations of glycolytic intermediates in yeast cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 16, 174-181 (1964).
43. Goldthwait, D.A.: 5-phosphorybosylamine, a precursor of glycinamide ribotide. J. Biol. Chem. 222, 1051-1068 (1956).
44. Goldthwait, D.A.: Mechanisms of synthesis of purine nucleotides in heart muscle extracts. J. Clin. Invest. 36, 1572-1578 (1957).
45. Graven, S.N., Lardy, H.A. and Rutter, A.: Antibiotics as tools for metabolic studies. VI. Damped oscillatory swelling of mitochondria induced by Nonactin, Monactin, Dinactin, and Trinactin. Biochemistry 5, 1735-1742 (1966).
46. Gundlach, H.G., Moore, S. and Stein, W.H.: The reaction of iodoacetate with methionine. J. Biol. Chem. 234, 1761-1764 (1959).
47. Harris, E.J., Catlin, G. and Pressman, B.C.: Effect of transport-inducing antibiotics and other agents on potassium flux in mitochondria. Biochemistry 6, 1360-1369 (1967).
48. Heppel, L.A.: Intestinal phosphomonoesterase. In: Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (eds.): Methods in Enzymology. New York 1955a, Academic Press, vol. II, pp. 530-533.
49. Heppel, L.A. and Hilmoe, R.J.: "5"-nucleotidases. In: Colowick, S.P. and Kaplan (eds.): Methods in Enzymology. New York 1955b, Academic Press, vol. II, pp. 546-550.
50. Herlihy, J.T. and Murphy, R.A.: Length-tension relationship of smooth muscle of the hog carotid artery. Circ. Res. 33, 275-283 (1973).
51. Hess, B., Haeckel, R. and Brand, K.: FDP-activation of yeast pyruvate kinase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 24, 824-831 (1966).
52. Hess, B. and Boiteux, A.: Control of glycolysis. In: Järnefelt, J. (ed.): Regulatory Functions of Biological Membranes. Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, BBA Library 11, 148-162 (1968).
53. Hess, B.: Allgemeine Prinzipien der Regulation der Glykolyse. Ergebnisse der experimentellen Medizin 9, 66-87 (1972).
54. Hess, B. and Boiteux, A.: Substrate control of glycolytic oscillations. In: Biological and Biochemical Oscillators, New York and London 1973, Academic Press Inc., pp. 229-241.
55. Hommes, F.A. and Schuurmans-Stekhoven, F.M.A.H.: Aperiodic changes of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide during anaerobic glycolysis in brewer's yeast. Biochim. Biophys. Acta 86, 427-428 (1964).
56. Kalckar, H.M.: The enzymatic synthesis of purine ribosides. J. Biol. Chem. 167, 477-486 (1947).
57. Kielley, W.W. and Bradley, L.B.: The relationship between sulfhydryl groups and the activation of myosin adenosinetriphosphate. J. Biol. Chem. 218, 653-659 (1956).

58. Kirschner, K., Eigen, M., Bittman, R. and Voigt, B.: The binding of nicotinamide-adenine dinucleotide to yeast d-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: Temperature-jump relaxation studies on the mechanism of an allosteric enzyme. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 56, 1661-1667 (1966).
59. Klungsøyr, L., Hagemen, J.H., Fall, L. and Atkinson, D.E.: Interaction between energy charge and product feedback in the regulation of biosynthetic enzymes. Aspartokinase, phosphoribosyladenosine triphosphate synthetase, and phosphoribosyl pyrophosphate synthetase. Biochemistry 7, 4035-4040 (1968).
60. Koepchen, H.P., Seller, H. und Polster, J.: Hochempfindliche Widerstandsregistrierung bei kleinen Flüssen. Pflügers Arch. ges. Physiol. 294, 72-78 (1967).
61. Kornberg, A., Lieberman, I. and Simms, E.S.: Enzymatic synthesis of purine nucleotides. J. Biol. Chem. 215, 417-427 (1955).
62. Lehninger, A.L.: In: Bioenergetik. Stuttgart 1970: Georg Thieme-Verlag.
63. Limas, C.J. and Cohn, J.N.: Stimulation of vascular smooth muscle sodium, potassium-adenosinetriphosphatase by vasodilators. Circ. Res. 35, 601-607 (1974).
64. Lohmann, K.: Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion. Biochem. Z. 271, 264-277 (1934).
65. Lowry, O.H. and Passonneau, J.V.: Kinetic evidence for multiple binding sites on phosphofructokinase. J. Biol. Chem. 241, 2268-2279 (1966).
66. Lowy, B.A., Ramot, B. and London, I.M.: The biosynthesis of adenosine triphosphate and guanosine triphosphate in the rabbit erythrocyte in vivo and in vitro. J. Biol. Chem. 235, 2920-2923 (1960).
67. Lundsgaard, E.: Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung. Biochem. Z. 217, 162-177 (1930a).
68. Lundsgaard, E.: Weitere Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung. Biochem. Z. 227, 51-83 (1930b).
69. Lymn, R.W. and Taylor, E.W.: Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. Biochemistry 10, 4617-4624 (1971).
70. Mansour, T.E.: Studies on heart phosphofructokinase: Purification, inhibition, and activation. J. Biol. Chem. 238, 2285-2292 (1963).
71. Markland, F.S. and Wadkins, C.L.: Adenosine triphosphate-adenosine-5'-monophosphate phosphotransferase of bovine liver mitochondria. II. General kinetic and structural properties. J. Biol. Chem. 241, 4136-4145 (1966).
72. Meyerhof, O. und Boyland, E.: Über den Atmungsvorgang jodessigsäurevergifteter Muskeln. Biochem. Z. 237, 406-417 (1931).
73. Moore, C. and Pressman, B.C.: Mechanism of action of Valinomycin on mitochondria. Biochem. Biophys. Res. Commun. 15, 562-567 (1964).
74. Olcott, H.S. and Fraenkel-Conrat, H.: Specific group reagents for proteins. Chemical Rev. 41, 151-197 (1947).
75. Ozawa, T.: Adenosine monophosphate as the first phosphoryl acceptor in oxidative phosphorylation. Arch. Biochem. Biophys. 117, 201-223 (1966).
76. Packer, L., Utsumi, K. and Mustafa, M.G.: Oscillatory states of mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. 117, 381-393 (1966).
77. Padieu, P. and Mommaerts, W.F.H.M.: Creatine phosphoryl transferase and phosphoglyceraldehyde dehydrogenase in iodoacetate poisoned muscle. Biochim. Biophys. Acta 37, 72-77 (1960).

78. Post, R.L., Sen, A.K. and Rosenthal, A.S.: A phosphorylated intermediate in adenosine triphosphate-dependent sodium and potassium transport across kidney membranes. J. Biol. Chem. 240, 1437-1445 (1965).
79. Post, R.L., Hegyvary, C. and Kume, S.: Activation by adenosine triphosphate in the phosphorylation kinetics of sodium and potassium ion transport adenosine triphosphatase. J. Biol. Chem. 247, 6530-6540 (1972).
80. Pressman, B.C.: Induced ion transport in mitochondria. Fed. Proc. 24, 425 (1965).
81. Pye, K. and Chance, B.: Sustained sinusoidal oscillations of reduced pyridine nucleotide in a cell-free extract of saccharomyces carlsbergensis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 55, 888-894 (1966).
82. Ramaiah, A., Hathaway, J.A. and Atkinson, D.E.: Adenylate as a metabolic regulator. J. Biol. Chem. 239, 3619-3622 (1964).
83. Richman, H.G. and Wyborny, L.: Adenine nucleotide degradation in the rabbit heart. Am. J. Physiol. 207, 1139-1145 (1964).
84. Robinson, J.D.: Kinetic studies on a brain microsomal adenosine triphosphatase. Evidence suggesting conformational changes. Biochemistry 6, 3250-3258 (1967).
85. Rüegg, J.C.: Smooth muscle tone. Physiol. Rev. 51, 201-248 (1971).
86. Schott, A. and Siegel, G.: 37. Effect of 2,4-Dinitrophenol on energy metabolism in frog atria: Correlation between changes in metabolism and in K^+-ion movements across the membrane. Pflügers Arch. ges. Physiol. 312, R29-31 (1969).
87. Sen, A.K. and Post, R.L.: Stoichiometry and localization of adenosine triphosphate-dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte. J. Biol. Chem. 239, 345-352 (1964).
88. Shen, L.C., Fall, L., Walton, G.M. and Atkinson, D.E.: Interaction between energy charge and metabolite modulation in the regulation of enzymes of amphibolic sequences. Phosphofructokinase and pyruvate dehydrogenase. Biochemistry 7, 4041-4045 (1968).
89. Seller, H., Langhorst, P., Polster, J. und Koepchen, H.P.: Zeitliche Eigenschaften der Vasomotorik. II. Erscheinungsformen und Entstehung spontaner und nervös induzierter Gefäßrhythmen. Pflügers Arch. ges. Physiol. 296, 110-132 (1967).
90. Siegel, G.J. and Albers, R.W.: Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of electrophorus electric organ. IV. Modification of responses to sodium and potassium by arsenite plus 2,3-dimercaptopropanol. J. Biol. Chem. 242, 4972-4979 (1967).
91. Siegel, G., Schott, A. and Koepchen, H.P.: 59. Increased active Na transport in dog's carotid artery during monoiodoacetate poisoning and its correlation to energy metabolism. Pflügers Arch. ges. Physiol. 312, R48-49 (1969).
92. Siegel, G., Roedel, H. and Koepchen, H.P.: Membrane permeability and active transport in vascular smooth muscle. In: Broda, E., Locker, A., Springer-Lederer, H. (eds.): Membranes, transport, vol. III. Wien: Verlag der Wiener Medizinischen Akademie 1971, pp. 277-288.
93. Siegel, G., Koepchen, H.P. and Roedel, H.: Slow oscillations of transmembrane Na and K fluxes in vascular smooth muscle. In: Betz, E. (ed.): Vascular smooth muscle. Berlin, Heidelberg, New York 1972: Springer-Verlag, pp. 3-6.

94. Siegel, G., Roedel, H., Bertsche, O. and Neumann, B.: Combination of morphometric and membrane physiological methods in vascular smooth muscle. In: Sonderbände der Praktischen Metallographie, Hrsg. Petzow, G., Bd. 5: Quantitative Analyse von Gefügen in Medizin, Biologie und Materialentwicklung, Hrsg. Exner, H.E. Stuttgart 1975: Dr. Riederer-Verlag, S. 153-167.
95. Skou, J.C.: Further investigation on a $Mg^{++}+Na^{+}$ activated adenosinetriphosphatase, possibly related to the active, linked transport of Na^{+} and K^{+} across the nerve membrane. Biochim. Biophys. Acta 42, 6-23 (1960).
96. Somlyo, A.P. and Somlyo, A.V.: Vascular smooth muscle. Pharmacol. Rev. 20, 197-272 (1968).
97. Somlyo, A.P.: Excitation-contraction coupling in vertebrate smooth muscle: Correlation of ultrastructure with function. Physiologist 15, 338-348 (1972).
98. Steedman, W.M.: Micro-electrode studies on mammalian vascular muscle. J. Physiol. (Lond.) 168, 382-400 (1966).
99. Stracher, A.: Carboxymethylation at the active site of disulfide exchanged myosin A. Biochem. Biophys. Res. Commun. 13, 279-284 (1963).
100. Switzer, R.L. and Sogin, D.C.: Regulation and mechanism of phosphoribosylpyrophosphate synthetase. J. Biol. Chem. 248, 1063-1073 (1973).
101. Taylor, E.W., Lymn, R.W. and Moll, G.: Myosin-product complex and its effect on the steady-state rate of nucleoside triphosphate hydrolysis. Biochemistry 9, 2984-2991 (1970).
102. Umbarger, E. and Brown, B.: Isoleucine and valine metabolism in escherichia coli. VII. A negative feedback mechanism controlling isoleucine biosynthesis. J. Biol. Chem. 233, 415-420 (1958).
103. Warburg, O. und Christian, W.: Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nukleotide). Biochem. Z. 287, 291-328 (1936).
104. Webb, J.L.: Enzyme and Metabolic Inhibitors, vol. III, New York and London 1966: Academic Press, pp. 69 and 191.
105. Wollenberger, A., Ristau, O. und Schoffa, G.: Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebestücke. Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 399-412 (1960).
106. Wolowyk, M.W., Kidwai, A.M. and Daniel, E.E.: Sodium-potassium stimulated adenosinetriphosphatase of vascular smooth muscle. Can. J. Biochem. 49, 376-384 (1971).
107. Yates, R.A. and Pardee, A.B.: Control of pyrimidine biosynthesis in escherichia coli by a feed-back mechanism. J. Biol. Chem. 221, 757-770 (1956).

LEBENSLAUF

Am 18.2.1943 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Horst Ewert und seiner Frau Antonie, geb. Bleise, in Allenstein (Ostpreußen) geboren. In der Zeit von 1949 bis 1955 besuchte ich in Bremerhaven-Weddewarden die Volksschule. Es folgte der Besuch des Theodor-Storm-Gymnasiums in Bremerhaven und des Humboldtgymnasiums in Solingen, das ich 1960 mit dem Abschluß der Mittleren Reife verließ. Von 1960 bis 1962 arbeitete ich als Praktikant in einer Maschinenfabrik in Solingen. Im Anschluß daran trat ich eine dreijährige Lehre als Laborant in einer Lebensmittelfabrik in Stuttgart an. Ab 1965 besuchte ich das Abendgymnasium in Berlin und bestand 1968 das Abitur. Im gleichen Jahr begann ich in Berlin das Studium der Medizin, das ich 1975 mit dem Staatsexamen abschloß. Als Medizinalassistent war ich am Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin, an der Chirurgischen Abteilung des Stadt- und Kreiskrankenhauses Kulmbach und an der Abteilung für Innere Medizin des Klinikums Steglitz der Freien Universität Berlin tätig.

B. Ludewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198